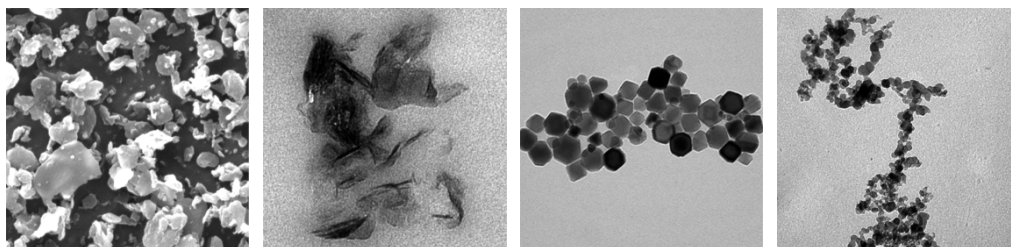


# **DESARROLLO DE NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA PREPARACIÓN DE NANOCOMPOSITES CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS**

**Íñigo Larraza Álvarez**



**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS**

**Grupo de Fotoquímica de Polímeros  
Departamento de Química Macromolecular Aplicada  
Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**Departamento de Química Orgánica  
Facultad de Ciencias**



**Madrid, 2012**

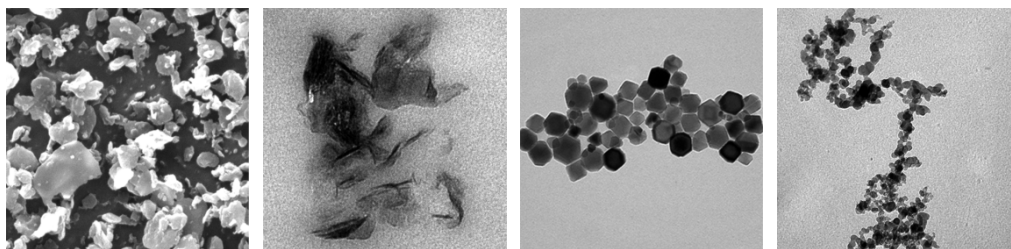
# **DESARROLLO DE NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA PREPARACIÓN DE NANOCOMPOSITES CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS**

**Íñigo Larraza Álvarez**

**Directoras**

**Dra. Teresa Corrales Viscasillas, Científico Titular, CSIC**

**Dra. Carmen Peinado Margalef, Investigador Científico, CSIC**



**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS**

**Grupo de Fotoquímica de Polímeros  
Departamento de Química Macromolecular Aplicada  
Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**Departamento de Química Orgánica  
Facultad de Ciencias**



**Madrid, 2012**

*“Una persona inteligente se repone pronto de un fracaso.*

*Un mediocre jamás se recupera de un éxito.”*

Lucio Anneo Seneca (4 a.c. – 65 d.c.).

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
1.1 Introducción	3
1.2 Objetivos	5
<b>2. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL</b>	<b>9</b>
2.1 Materiales nanocompuestos	9
2.2 Silicatos laminares. Montmorillonita	11
2.3 Materiales nanocompuestos con MMT	13
2.4 Surfactantes macromoleculares	18
2.5 Polímeros con actividad antimicrobiana	19
2.6 Estabilidad térmica	23
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>27</b>
3.1 Técnicas de caracterización	27
3.1.1 Espectroscopías y difracción de RX	27
3.1.2 Medida de ángulos de contacto y tensión superficial	28
3.1.3 Técnicas microscópicas	28
3.1.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido Medioambiental (ESEM)	28
3.1.3.2 Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM)	29
3.1.3.3 Microscopía confocal de fluorescencia	29
3.1.3.4 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)	29
3.1.3.5 Microscopio confocal	30
3.1.3.6 Microscopio óptico	30
3.1.4 Técnicas de análisis térmico	30
3.1.4.1 Análisis Termogravimétrico (TGA)	30
3.1.4.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	31
3.1.4.3 Quimioluminiscencia	32
3.1.5 Propiedades mecánicas	33
3.1.6 Ensayos biológicos	34



3.1.6.1 Cultivos celulares sobre los materiales PCL/MMT	34
3.1.6.2 Medidas indirectas de impedancia de la biodegradación de los materiales PCL/MMT	36
3.1.6.3 Adhesión bacteriana en los materiales basados en HEMA/PEGDMA	36
3.1.6.4 Medidas indirectas de impedancia de la biodegradación de los materiales PVA/Ag	37
3.1.6.5 Adhesión bacteriana en los materiales de PVA y PVA/Ag	37
3.2 Parte Experimental del Capítulo 4	38
3.2.1 Materiales	38
3.2.2 Síntesis y cuaternización del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NDB	39
3.2.2.1 Síntesis del macroiniciador de PCL.	39
3.2.2.2 Síntesis del copolímero vía ATRP	39
3.2.2.3 Cuaternización del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NDB <sub>i</sub> .	42
3.2.3 Preparación de los materiales nanocompuestos	42
3.2.3.1 Modificación de la MMT con el copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD	42
3.2.3.2 Preparación de los nanocomposites por mezclado en fundido	43
3.2.4 Caracterización térmica de los materiales mediante DSC	43
3.2.5 Tratamiento con plasma	44
3.3 Parte Experimental del Capítulo 5	45
3.3.1 Materiales	45
3.3.1.1 Polímeros hiperramificados (HBP)	45
3.3.1.2 Monómeros y fotoiniciador	45
3.3.2 Preparación de los materiales nanocompuestos.	46
3.3.2.1 Cuaternización de los HBP	46
3.3.2.2 Modificación de la MMT con HPB cuaternizados	47
3.3.2.3 Preparación de los nanocomposites por fotopolimerización	47
3.4 Parte Experimental del Capítulo 6	48
3.4.1 Materiales	48
3.4.2 Magnetización	48

3.4.3 Procedimientos experimentales	48
3.4.3.1 Síntesis de las nanopartículas magnéticas	48
3.4.3.2 Síntesis de las nanopartículas magnéticas recubiertas con PEI	48
3.4.3.3 Preparación de los materiales híbridos MMT-PEI-Magnetita	49
3.4.3.4 Experimentos de adsorción de Cromo	50
3.5 Parte Experimental del Capítulo 7	51
3.5.1 Materiales	51
3.5.2 Equipos	51
3.5.3 Procedimientos experimentales	52
3.5.3.1 Preparación de las estructuras mediante litografía	52
3.5.3.2 Síntesis de los materiales nanocompuestos PVA/Ag	54
3.5.3.3 Caracterización térmica de los materiales	55
<b>4. MATERIALES NANOCOMPUESTOS PCL/MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub></b>	<b>59</b>
4.I PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	59
4.I.1 Introducción	59
4.I.1.1 Poli (ε-caprolactona)	59
4.I.1.2 Materiales nanocompuestos de PCL/MMT	60
4.I.1.3 Polimerización radical controlada por transferencia de átomo, ATRP	62
4.I.1.4 Modificación de MMT con copolímeros de bloque	64
4.I.2 Resultados y discusión.	65
4.I.2.1 Síntesis y caracterización del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD	66
4.I.2.1.1 Síntesis del copolímero de bloque	66
4.I.2.1.2 Caracterización térmica del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NDB	69
4.I.2.1.3 Caracterización fotoquímica del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NDB	71
4.I.2.2 Modificación de la MMT-k10	72

4.I.2.3 Morfología de los materiales basados en PCL y MMT	74
4.I.2.4 Propiedades superficiales de los materiales	76
4.I.2.4.1 Ángulos de contacto y energía libre superficial	76
4.I.2.4.2 Morfología superficial de los materiales	79
4.I.2.5 Propiedades térmicas de los materiales	81
4.I.2.6 Propiedades mecánicas de los materiales	86
4.I.2.7 Estudio de la estabilidad térmica de los materiales mediante termogravimetría y análisis de emisión de quimioluminiscencia	87
4.I.2.8 Ensayos de crecimiento celular	90
4.I.2.9 Actividad antimicrobiana	92
 4.II MODIFICACIÓN SUPERFICIAL DE LOS MATERIALES NANOCOMPUESTOS CON PLASMA OXIDANTE	 97
4.II.1 Introducción	97
4.II.2 Resultados y discusión	99
4.II.2.1 Caracterización topográfica y propiedades superficiales	99
4.II.2.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	99
4.II.2.1.2 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)	102
4.II.2.1.3 Medidas de ángulo de contacto	104
4.II.2.2 Caracterización química	105
4.II.2.2.1 Espectroscopía Infrarroja (ATR-FTIR)	105
4.II.2.2.2 Análisis de emisión de quimioluminiscencia (QL)	108
 <b>5. MATERIALES NANOCOMPUESTOS HEMA-PEGDMA/MMT-HBP</b>	 113
5.1 Introducción	113
5.1.1 Polímeros hiperramificados. Características, propiedades y aplicaciones	113
5.1.2 Materiales nanocompuestos formados por silicatos laminares y polímeros hiperramificados	117
5.1.3 Fotopolimerización UV	119
5.2 Resultados y discusión	122
5.2.1 Preparación de los materiales nanocompuestos	122

5.2.1.1 Cuaternización de los HBP	122
5.2.1.2 Modificación de la arcilla con HBP cuaternizados	123
5.2.1.3 Fotopolimerización de los nanocomposites y caracterización de la morfología	126
5.2.2 Propiedades térmicas de los nanocomposites	130
5.2.3 Actividad antimicrobiana y microdureza de los nanocomposites	133
 <b>6. SÍNTESIS DE MATERIALES HÍBRIDOS MONTMORILLONITA -POLIETILENIMINA-MAGNETITA. APLICACIÓN COMO ADSORBENTES DE Cr (VI) PARA REMEDIACIÓN DE AGUAS</b>	 139
6.1 Introducción	139
6.2 Resultados y discusión	141
6.2.1 Caracterización de las nanoestructuras obtenidas	142
6.2.1.1 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	142
6.2.1.2 Difracción de RX	144
6.2.1.3 Espectroscopía Infrarroja (FTIR)	145
6.2.1.4 Análisis termogravimétrico (TGA)	147
6.2.1.5 Medidas de magnetización	148
6.2.2 Capacidad de adsorción de Cr (VI)	149
6.2.2.1 Efecto de la concentración inicial de Cr (VI)	149
6.2.2.2 Efecto del pH	151
 <b>7. MATERIALES NANOCOMPUESTOS PVA/Ag CON SUPERFICIE MICROESTRUCTURADA</b>	 157
7.1 Introducción	157
7.1.1 Preparación de superficies microestructuradas <i>vía</i> litografía	157
7.1.2 Adhesión bacteriana en superficies	158
7.1.3 Síntesis de nanopartículas de plata mediante irradiación UV	159
7.1.4 Materiales nanocompuestos PVA/Ag preparados por irradiación <i>in situ</i>	161
7.2 Resultados y discusión	162
7.2.1 Caracterización de los nanocomposites	162

7.2.2 Preparación de las estructuras en las obleas de silicio	166
7.2.3 Obtención de las estructuras en los filmes de PVA	167
7.2.4 Actividad antimicrobiana	169
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>177</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>185</b>

## **CAPÍTULO 1**



## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

### 1.1 Introducción.

La evolución de las civilizaciones ha estado íntimamente ligada al desarrollo de nuevos materiales y tecnologías. La búsqueda y el desarrollo de materiales con propiedades capaces de satisfacer unas determinadas necesidades ha sido un hecho constante a lo largo de la historia. Una de las estrategias más habituales para conseguirlo ha sido a través de la mezcla de componentes cuyas propiedades por separado no eran adecuadas, sin embargo su combinación hace que el material obtenido sí las tenga, como son los casos del adobe, el bronce o el acero.

El bajo coste, ligereza, facilidad de procesado, versatilidad y baja conductividad eléctrica son algunas de las ventajas que han hecho que los materiales polímeros se hayan convertido en algo imprescindible a la hora de fabricar innumerables artículos que son utilizados hoy en día, y esto ha supuesto una revolución en una infinidad de ámbitos, más recientemente en la electrónica, las telecomunicaciones, la industria alimentaria y la medicina.

Sin embargo, muchas veces los polímeros por sí mismos no pueden satisfacer por completo las necesidades que una aplicación puede requerir, como puede ser unas determinadas propiedades mecánicas o térmicas, en comparación con otros materiales inorgánicos como los metales o las cerámicas.

Debido a esto, a los polímeros tradicionalmente se les ha incorporado materia inorgánica como refuerzo, por ejemplo partículas de óxido de silicio o fibras de vidrio, obteniendo materiales compuestos. Es un hecho demostrado que en un material multifásico el refuerzo será más eficiente cuanto mayor sea el volumen de área superficial en contacto entre ambas fases y mejor sea la compatibilidad que se logre entre ellas. Por ello, en el campo de los materiales compuestos, el esfuerzo se ha enfocado en reducir el tamaño de la fase de refuerzo hasta su unidad estructural nanométrica, y en la búsqueda de agentes de compatibilización entre fases de distinta naturaleza, es decir, en la obtención de materiales nanocompuestos.



La nanotecnología es un área científica relativamente novedosa, que se centra en el estudio de la materia en la escala nanométrica, y que ha supuesto una revolución en el campo de los materiales fundamentalmente por dos motivos: el hecho de que el comportamiento de un material en la escala nanométrica pueda ser radicalmente distinto al esperado mediante la extrapolación de sus propiedades en la escala micrométrica, y por su carácter absolutamente multidisciplinar.

La revolución de los materiales poliméricos nanocompuestos radica en la obtención de materiales con propiedades a medida, empleando concentraciones muy bajas de material de refuerzo, a través de la utilización de métodos de síntesis y procesamiento convencionales utilizados en materiales microcompuestos.

La necesidad de desarrollar materiales con propiedades muy específicas para aplicaciones como la fabricación de prótesis, material quirúrgico, dispositivos biomédicos o empaquetamiento de alimentos, abre un amplio campo de investigación dedicado a la preparación y el estudio de materiales poliméricos nanocompuestos con propiedades antimicrobianas, con el fin de evitar la formación de biofilme y la posterior biodegradación de estos materiales en presencia de microorganismos infecciosos.

Existen distintas estrategias a la hora de fabricar materiales poliméricos con actividad antimicrobiana. Una estrategia consiste en la utilización de polímeros que poseen actividad antimicrobiana por sí mismos, debido a que en su estructura presentan por ejemplo grupos amonio cuaternario, en la cadena principal o como sustituyentes laterales. La actividad antimicrobiana de estas especies químicas es bien conocida y está basada en su capacidad para producir alteraciones en la membrana celular bacteriana. Otra forma de proporcionar actividad antimicrobiana a un material polimérico ha sido a través de la incorporación de compuestos inorgánicos antimicrobianos, como arcillas o nanopartículas metálicas. Tradicionalmente, las arcillas se han modificado orgánicamente a través del intercambio de los cationes metálicos presentes en su estructura laminar, por cationes orgánicos de bajo peso molecular. Sin embargo estos surfactantes presentan baja funcionalización y su función se ve relegada generalmente a la modificación de las arcillas, para mejorar la compatibilización con la matriz.

## 1.2 Objetivos.

El objetivo general del trabajo es desarrollar nuevos materiales poliméricos nanocompuestos con efecto antimicrobiano a través de la incorporación de: 1) arcillas modificadas con surfactantes de alto peso molecular, y 2) nanopartículas de plata en materiales con microestructura superficial.

La incorporación de nanopartículas de naturaleza inorgánica en polímeros hace que la compatibilización entre ambas fases mediante un surfactante sea imprescindible. En este trabajo se han sintetizado surfactantes de alto peso molecular, copolímero de bloque y polímeros hiperramificados con grupos amonio cuaternario, que favorecerán el intercambio catiónico en la arcilla, y la compatibilización, desagregación y dispersión de las nanoestructuras laminares, en matrices poliméricas.

Puesto que la formación de biofilme requiere que la población bacteriana se una de forma estable en una superficie, la regulación de la rigidez a través de la incorporación de la arcilla y el gran número de grupos funcionales de naturaleza antibacteriana, cationes amonio cuaternario, presentes en la arcilla constituye una interesante alternativa para limitar la formación y preservar la superficie de contaminación microbiana.

Así, los materiales nanocompuestos han sido preparados por mezclado en fundido o fotopolimerización *in situ* en presencia de arcillas modificadas. La tecnología basada en el fotocurado se presenta como una alternativa de gran interés desde el punto de vista económico y medioambiental.

Por otra parte, el control de la estructura superficial “patterning” es crítico para limitar la adsorción de especies indeseadas o alterar el comportamiento de adhesión. En este trabajo se han preparado materiales con geometrías superficiales microestructuradas, de las que dependerá su actividad superficial, mediante dos métodos: tratamiento con plasma y litografía.

El tratamiento con plasma es una técnica que puede dar lugar a la modificación de la química y de las propiedades de las superficies de los sustratos, y es una vía eficaz para obtener materiales resistentes al ensuciamiento.

En los materiales preparados por litografía se han sintetizado nanopartículas de plata por irradiación *in situ* de manera que las propiedades antimicrobianas del material son evaluadas en función de la presencia de nanopartículas de plata y dimensiones del patrón superficial.

La Memoria se ha estructurado en nueve capítulos:

En el **Capítulo 2** se hace una introducción sobre los antecedentes y el estado actual de los materiales nanocompuestos con actividad antimicrobiana.

El **Capítulo 3** corresponde a la Parte Experimental y en él se describen los materiales utilizados, los procedimientos de síntesis y las técnicas de caracterización.

El **Capítulo 4** corresponde a los materiales nanocompuestos basados en policaprolactona y montmorillonita modificada con un copolímero de bloque fluorescente. En él se describe la preparación, caracterización, propiedades antibacterianas y viabilidad celular de los materiales. Se estudian las propiedades superficiales de los materiales sometidos a tratamientos con plasma oxidante.

En el **Capítulo 5** se describe la fotopolimerización de materiales nanocompuestos basados en una matriz acrílica y arcillas modificadas con polímeros hiperramificados. Se analiza el efecto de las arcillas en las cinéticas de fotopolimerización, propiedades térmicas de los nanocomposites y actividad antibacteriana.

En el **Capítulo 6** se describe la preparación de materiales híbridos nanoestructurados basados en montmorillonita, polietilenimina y nanopartículas de magnetita, y su utilización como adsorbentes magnéticos para la eliminación de Cr (VI) en disolución acuosa.

En el **Capítulo 7** se detalla la preparación de materiales nanocompuestos, microestructurados superficialmente, basados en polialcohol vínico y nanopartículas de plata generadas por irradiación *in situ*. Se estudia el efecto de la presencia de las nanopartículas en las propiedades térmicas y antibacterianas de los nanocomposites.

El **Capítulo 8** recoge las conclusiones más relevantes obtenidas en el presente trabajo.

La Bibliografía de toda la Memoria se ha unificado en el **Capítulo 9**.

## **CAPÍTULO 2**



## ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL

### 2.1 Materiales nanocompuestos.

Un material compuesto polimérico se define como un material multifase constituido por dos o más componentes, en los cuales el polímero forma la fase continua, y contiene cargas o agentes de refuerzo para obtener determinadas estructuras que permitan aprovechar aquellas propiedades de interés de cada uno de los componentes.

Estos materiales combinan las ventajas de los polímeros orgánicos, baja densidad, versatilidad y facilidad de procesado, con las de otros materiales inorgánicos, rigidez, resistencia a la oxidación, etc. Sus propiedades dependen de su perfección estructural, por lo que se ha tendido a la reducción de tamaño del componente inorgánico hasta dimensiones nanométricas, donde alcanza máximas propiedades.

Los materiales nanocompuestos son aquellos que contienen constituyentes de dimensiones nanoscópicas (nanopartículas, nanoláminas, nanofibras o nanotubos), siendo las dimensiones de estas cargas del mismo orden que el radio de giro de la cadena polimérica.

El aumento del sinergismo entre la matriz polimérica y el refuerzo es clave y permite el diseño de materiales con nuevas propiedades de alto valor añadido: modificación de la conductividad eléctrica, mejora de las propiedades barrera frente a moléculas pequeñas, propiedades ópticas y resistencia a agentes externos.

Existen ciertas diferencias frente a los materiales compuestos convencionales que hacen que el estudio y la aplicación de los materiales nanocompuestos sean de gran interés. La elevada razón superficie/volumen que presentan los nanoaditivos presentes en la matriz polimérica en comparación con las cargas convencionales, aumentan considerablemente el área interfacial en éstos, de tal forma que las propiedades del material estarán regidas por las propiedades de la interfase.

La fracción de volumen de nanoaditivo que se requiere para la mejora de propiedades es excepcionalmente baja, comparada con la que es necesaria utilizando aditivos convencionales. Además, la incorporación de nanoaditivo se puede llevar a cabo

mediante métodos de procesamiento convencionales, por tanto, el aumento de coste del material como consecuencia de la incorporación del nanoaditivo debería estar compensado por la mejora de propiedades.

El principal aspecto que distingue un nanomaterial no es que sus dimensiones estén en el orden de la nanoescala; si no, el hecho de que no se cumplan las leyes de escala. Esto significa que una o más propiedades son diferentes o radicalmente diferentes de como cabría esperar mediante la extrapolación de las propiedades del material en bloque o en la región de la microescala.

Debido a todos estos factores, el desarrollo de materiales nanocompuestos de matriz polimérica constituye una línea de investigación de gran interés, ya que permite la posibilidad de diseñar y preparar materiales con propiedades a medida con aplicaciones en muy diferentes áreas.

En función del tipo de carga, se puede clasificar los materiales nanocompuestos en:

- Materiales compuestos cargados con nanopartículas: inorgánicas, como los óxidos de silicio y titanio, partículas metálicas, o bien con partículas orgánicas.
- Materiales compuestos cargados con nanoestructuras laminares: grafito, silicatos laminares.
- Materiales cargados con nanofibras y nanotubos de carbono.

Una dispersión homogénea de la fase inorgánica en la matriz es determinante, puesto que favorece una elevada área interfacial fase orgánica/inorgánica por unidad de volumen del material, favoreciendo el contacto entre polímero-carga, y como consecuencia de esta morfología se modifican sus propiedades: movilidad molecular, comportamiento de relajación, volumen libre, transiciones térmicas, etc. Los parámetros que controlan la dispersión de la fase inorgánica no son del todo conocidos, por lo que es necesario profundizar en el desarrollo de métodos de preparación con mayor control sobre la morfología del nanocompuesto, porque de ella dependerán sus propiedades.

## 2.2 Silicatos laminares. Montmorillonita.

Los silicatos son el grupo de minerales de mayor abundancia, constituyendo el 95% de la corteza terrestre. Todos los silicatos están compuestos por oxígeno y silicio y, dependiendo del tipo de silicato, pueden estar acompañados de otros elementos como aluminio, hierro, magnesio o calcio. Por ejemplo, en los aluminosilicatos, un átomo de silicio es sustituido por uno de aluminio.

Las propiedades de los silicatos dependen más de la estructura cristalina en que se disponen sus átomos que de los elementos químicos que constituyen su fórmula. Más concretamente, dependen de la forma en que se dispone y enlaza con los iones la unidad fundamental de los silicatos, el tetraedro de  $(\text{SiO}_4)^{4-}$ .

Los filosilicatos o silicatos laminares son una subclase de los silicatos que incluye minerales comunes muy diversos y que presentan como rasgo común un aspecto escamoso derivado de la existencia de una exfoliación basal perfecta. Esto es consecuencia de la presencia en su estructura de capas de tetraedros de dimensionalidad infinita en dos direcciones del espacio. En general son muy blandos y de bajo peso específico. Se han clasificado los filosilicatos en cuatro grupos: el grupo de la serpentina, el grupo de la arcilla, el grupo de la mica y el de la clorita.

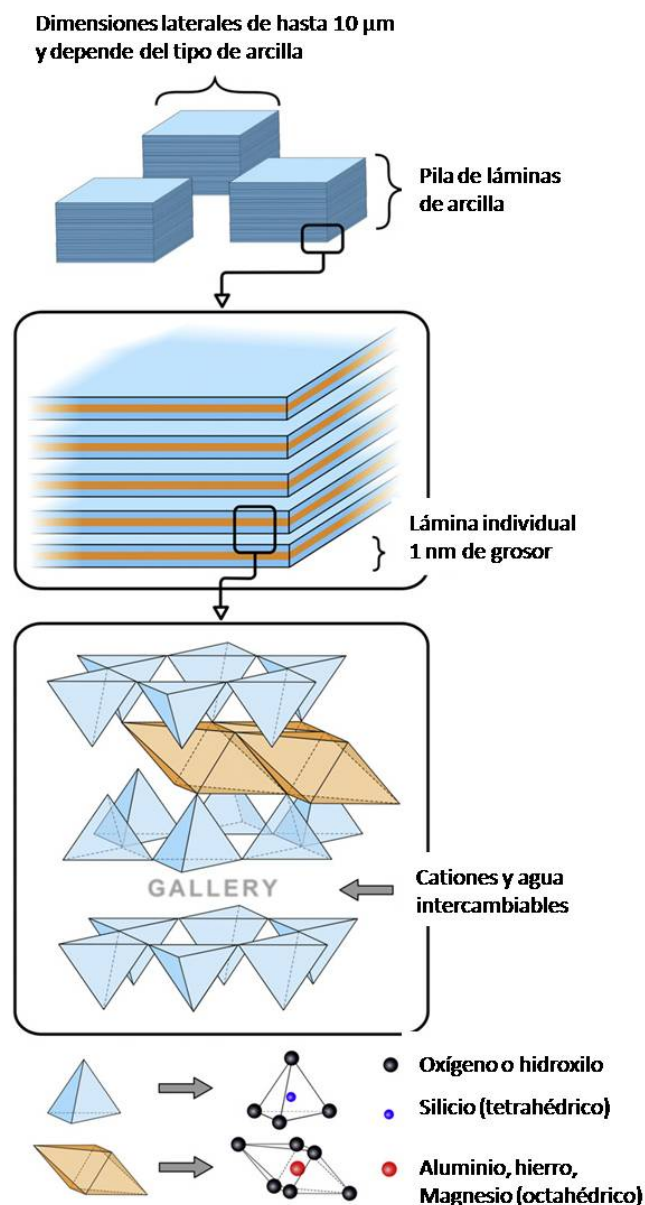
Los minerales de arcilla son filosilicatos de aluminio hidratados, a veces con cantidades variables de hierro, magnesio, metales alcalinos y otros cationes. Las arcillas se pueden clasificar atendiendo al tipo de unidad laminar cristalina<sup>1</sup>, como se recoge en la **Tabla 1.1**.

**Tabla 1.1.** Clasificación de las arcillas.

Tipo de unidad laminar	Familia de arcilla	Ejemplos
1:1	Kaolinita	Kaolinita
	Illita	Illita
2:1	Esmectita	Montmorillonita, saponita, vermiculita
	Hidromica	Glaucomica
2:2	Clorita	Clorita
Lámina mixta y estructura tipo cadena	Sepiolita	Sepiolita



De entre las arcillas mencionadas, en este trabajo se ha seleccionado la montmorillonita (MMT) como material inorgánico de refuerzo. En la **Figura 1.1** se ha representado la estructura de una lámina de tipo 2:1 de la montmorillonita. Esta arcilla se encuentra en la naturaleza en agregados de láminas apiladas cuyas dimensiones laterales pueden variar desde 100 nm hasta 10  $\mu\text{m}$ . Cada lámina está formada por dos capas cristalinas de óxido de silicio tetraédricas que tienen una capa cristalina de óxido de silicio octaédrica entre ellas. Entre las láminas existen cationes metálicos como sodio o potasio.



**Figura 1.1.** Representación estructural de la montmorillonita.<sup>2</sup>

Todas las posiciones superiores e inferiores del conjunto de las láminas de MMT están completamente ocupadas por átomos de oxígeno. Estas láminas están sujetas entre ellas por una fuerza intermolecular relativamente débil. Como resultado, moléculas de agua pueden penetrar fácilmente en la región interlaminar y producir un aumento del espaciado entre las láminas. Debido a que se da una sustitución isomórfica entre metales, la arcilla MMT que tiene cargas negativas puede adsorber cationes hidratados con igual carga eléctrica. De acuerdo con esto, la MMT es una arcilla expandible que tiene actividad coloidal. La totalidad de la superficie laminar incluyendo las superficies interior y exterior pueden ser hidratadas y se pueden producir reacciones de intercambio catiónico.

El grado de expansión de la MMT está determinado por la categoría de los cationes intercambiables. La presión ejercida durante la expansión de la MMT natural en la que la mayoría de los cationes adsorbidos son sódicos (también llamada Na-MMT) es muy alta, llevando a la exfoliación y dispersión de los cristales en forma de partículas finas e incluso láminas individuales. Como se va a abordar en detalle más adelante, la MMT presenta la gran ventaja de que los cationes metálicos que están presentes entre las láminas pueden ser intercambiados por otros cationes, incluyendo cationes orgánicos tipo sales de amonio y fosfonio.

Además de ser utilizados, principalmente, como refuerzo térmico y mecánico en materiales nanocompuestos, como se detallará más adelante, debido a sus excelentes propiedades superficiales<sup>1, 3</sup> y su bajo coste económico, la MMT ha sido utilizada en otras aplicaciones, como soporte para catalizadores,<sup>4</sup> adsorción de metales pesados,<sup>5</sup> como soporte para la liberación de fármacos,<sup>6</sup> etc.

### **2.3 Materiales nanocompuestos con MMT.**

Los investigadores Akane Okada y Arimitsu Usuki del centro de investigación y desarrollo de Toyota, en Japón, fueron los primeros en estudiar la química de los materiales híbridos polímero/arcilla.<sup>7-12</sup> Su investigación nació de la necesidad de buscar nuevos materiales con aplicaciones en el campo de la automoción. En los primeros trabajos que publicaron, sintetizaron nanocomposites de nylon-6 y MMT a

partir de la polimerización *in situ* de la  $\epsilon$ -caprolactama. No se tardó en encontrar una aplicación industrial para estos nuevos materiales híbridos, y se utilizaron para la fabricación de una correa de distribución más barata, ligera y con mejores propiedades térmicas y mecánicas que su predecesora, basadas en una matriz de nylon-6 con refuerzo de fibra de vidrio. Estos trabajos no sólo crearon un nuevo campo de estudio de gran interés académico e industrial, sino que sentaron las bases de la síntesis y caracterización de estos nuevos materiales.

Posteriormente los silicatos laminares como la MMT se han incorporado en matrices poliméricas en innumerables trabajos para reforzarlas mecánicamente,<sup>13</sup> retrasar su descomposición térmica,<sup>14</sup> como retardante de llama,<sup>15</sup> mejorar sus propiedades barrera ante el paso de gases,<sup>16</sup> etc.

No obstante, este silicato laminar presenta dos inconvenientes a la hora de incorporarlas en una matriz polimérica:

1. La montmorillonita es un material inorgánico, hidrofílico, inmiscible con materia orgánica, incluyendo los polímeros, de tal forma que es necesario modificarla superficialmente para poder incorporarla a un polímero.
2. Sus láminas poseen una alta energía superficial<sup>17</sup> y están unidas entre sí mediante interacciones electrostáticas formando agregados, para obtener un refuerzo eficiente es necesario separarlas y exfoliarlas en dicha matriz, de lo contrario, la presencia de grandes agregados puede tener un efecto negativo desestabilizando la matriz en la que se encuentren.

La solución más ampliamente utilizada para resolver estos dos problemas consiste en modificar la MMT con una molécula orgánica capaz de intercambiarse con los cationes metálicos que están presentes en los espacios interlaminares de la arcilla, generalmente un átomo de nitrógeno tetrasustituido, con al menos un resto orgánico. Estas moléculas actúan como surfactantes y favorecen la compatibilidad entre las fases orgánica e inorgánica al reducir la energía interfacial entre ellas.

El procedimiento habitual suele consistir en suspender la arcilla en agua, de tal forma que se hinche, aumentando ligeramente el espaciado entre láminas, y añadir el surfactante disuelto en agua o en un disolvente miscible con ésta. De esta manera el catión de amonio cuaternario penetra entre las láminas, intercambiándose por los

cationes metálicos presentes, y quedando intercalado en la arcilla, provocando un aumento del espaciado interlaminar, y modificando el carácter hidrofílico de la arcilla. A las arcillas obtenidas por este procedimiento se les denomina organo-arcillas, arcillas organo-modificadas o nanoarcillas.

Existen al menos cinco métodos de preparación de materiales nanocompuestos con silicatos laminares:<sup>18-19</sup>

### 1. Intercalado de polímero o prepolímero en disolución.<sup>20</sup>

Este método consiste en dispersar la arcilla organo-modificada en una disolución del polímero o prepolímero. Una vez que éste se añade e intercala entre las láminas de la arcilla, se obtiene el nanocomposite, bien por eliminación de los disolventes o bien por precipitación.

### 2. Intercalado en fundido.<sup>21</sup>

Ésta es probablemente la estrategia de preparación de nanocomposites polímero/arcilla más extendida. Consiste en el mezclado del silicato laminar y el polímero en estado fundido o a su temperatura de procesado, en un mezclador bajo cizalla. Presenta varias ventajas: no se necesitan disolventes orgánicos, por tanto es un método limpio desde el punto de vista medioambiental y económico. Es industrialmente interesante, ya que se pueden preparar nanocomposites por extrusión en continuo. Además las fuerzas de cizalla que se producen en el procesado facilitan la exfoliación de aglomerados de mayor tamaño.<sup>22-25</sup>

### 3. Intercalado por polimerización *in situ*.

Fue el primer método de síntesis de nanocomposites polímero/arcilla basados en poliamida 6.<sup>26</sup> La estrategia consiste en dispersar los silicatos organo-modificados en un monómero líquido o en una disolución de monómero para que éste migre al interior de las galerías del silicato laminar, hinchándolo. La reacción puede estar iniciada térmicamente o por irradiación y debe haber un iniciador que puede ser añadido a la mezcla<sup>27</sup> o bien puede estar injertado en la superficie de los silicatos. Utilizando esta metodología se puede encontrar ejemplos de modificación de arcilla con surfactantes fotopolimerizables, en forma de cationes de amonio cuaternario en los que un sustituyente posee un grupo acrílico o metacrílico susceptible de reacción vía radicales

libres.<sup>28-29</sup> Este método presenta varias ventajas ya que se evita la necesidad de disolvente, la velocidad de reacción es ultrarrápida, se pueden controlar temporal y espacialmente y se llevan a cabo a temperatura ambiente, evitando la degradación térmica del surfactante.

#### 4. Tecnología sol-gel.

Esta técnica consiste en que el mineral es sintetizado dentro de la matriz polimérica, utilizando una disolución acuosa que contiene el polímero y los precursores del silicato, que generalmente son hidróxido de magnesio y fluoruro de litio. Durante este proceso, tiene lugar la nucleación y crecimiento de los cristales y el polímero queda atrapado entre las láminas a medida que éstas se van generando. Aunque a priori puede parecer un método muy interesante, presenta varios inconvenientes: el primero es que se necesitan elevadas temperaturas para sintetizar éstos minerales, lo cual descompone el polímero, y en segundo lugar, la tendencia a agregarse de los silicatos.

#### 5. Capa a capa (*layer by layer*, LBL).<sup>30-31</sup>

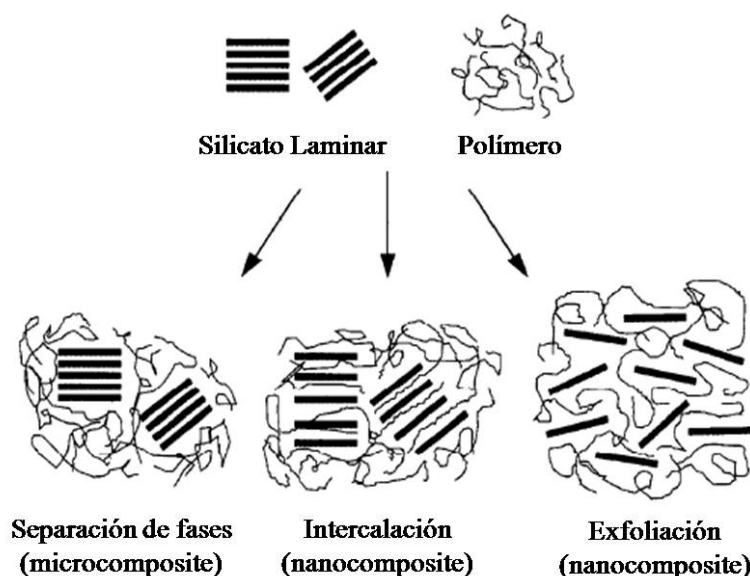
Esta técnica es una manera versátil y económica de generar nanocomposites en forma de lámina fina mediante la adsorción alternante de especies químicas con diferente naturaleza electrostática en disolución acuosa. De esta forma, se sumerge un substrato en una disolución de un polímero y una suspensión de MMT alternativamente, obteniendo un material nanocompuesto estructurado en capas con excelentes propiedades ópticas y mecánicas. Esta técnica presenta la ventaja de que la arcilla no ha de estar previamente modificada, ya que el polímero, debido a su naturaleza catiónica, es capaz de incorporarse en la superficie de los silicatos negativamente cargados.

En una situación ideal, al incorporar un silicato laminar organo-modificado en una matriz polimérica, obtendríamos un material nanocompuesto en el que todas las láminas de arcilla se encuentran de forma individual e uniformemente distribuidas en la matriz. De esta manera existiría una gran proporción de superficie de contacto entre las fases, optimizando la eficiencia del refuerzo.

No obstante, como se ha comentado, la energía superficial entre las láminas de MMT es muy elevada y no siempre se alcanzan las condiciones más adecuadas para sintetizar un nanocomposite en el que la arcilla se halle completamente exfoliada y bien compatibilizada con la matriz polimérica.

Atendiendo a la estructura del composite, como se muestra la imagen de la **Figura 1.2** se pueden observar tres morfologías distintas: separación de fases (microcomposite), intercalación y exfoliación (nanocomposite).

La morfología de separación de fases se caracteriza por la ausencia de compatibilización de la arcilla en la matriz polimérica. Esto ocurre porque no se ha producido una modificación efectiva de los silicatos laminares y éstos se encuentran en forma de agregados de tamaño micrométrico. En este caso no se puede hablar de nanocomposites, si no de microcomposites. Puede ocurrir que las propiedades del material obtenido no solamente no hayan mejorado con respecto al polímero sin carga, si no que la presencia de estos tactoides desestabilice la matriz, obteniendo materiales con propiedades inferiores como el módulo elástico o la temperatura de degradación del material.



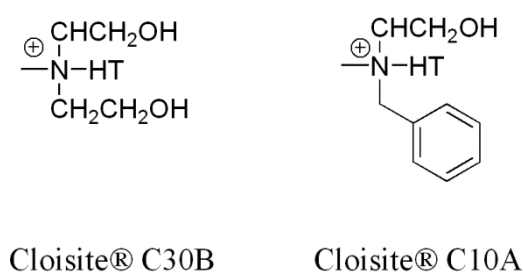
**Figura 1.2.** Posibles morfologías que se pueden dar en nanocomposites con silicatos laminares.<sup>15</sup>

En el caso de la morfología de intercalación una pequeña parte de las cadenas de polímero penetra en el espacio interlaminar de forma que está extendida, formándose una estructura bien ordenada en la que se alternan el polímero y las láminas de arcilla. Aunque éste no es el caso ideal, podemos referirnos a los materiales con esta morfología como materiales nanocompuestos.

La morfología ideal es la exfoliación o delaminación. Esto ocurre cuando las láminas están completa y uniformemente dispersas en la matriz polimérica. Esta configuración es particularmente interesante porque maximiza el área de contacto entre polímero y arcilla y por tanto las interacciones en la interfase. A priori esto debería llevar a los cambios más significativos en las propiedades mecánicas y físicas. Generalmente en la literatura se encuentra una combinación de morfologías, siendo lo más habitual nanocomposites con estructura de intercalación/exfoliación.

## 2.4 Surfactantes macromoleculares.

Tradicionalmente los surfactantes que se han empleado para la modificación de silicatos laminares han sido moléculas discretas con un átomo cargado positivamente capaz de intercambiarse con los cationes metálicos de la arcilla. En la mayoría de los ejemplos de materiales poliméricos nanocompuestos con MMT que se pueden encontrar en la literatura, la MMT que se ha empleado es tipo Cloisite®, de la casa Southern Clay Products Inc (Texas, EEUU), la cual está previamente modificada con sales de amonio cuaternario, como se representa en la **Figura 1.3**.



**Figura 1.3.** Representación de los surfactantes empleados en las MMT comerciales de tipo Cloisite®. HT es el acrónimo en inglés de hydrogenated tallow.

Recientemente, existen ejemplos de preparación de nanocomposites con silicatos laminares en los que éstos han sido modificados con macromoléculas. Hay principalmente dos maneras de modificar la superficie de los silicatos laminares con macromoléculas: (a) mediante adsorción física y (b) mediante anclaje de polímeros funcionalizados en la superficie de dichos minerales.<sup>32</sup> La adsorción física viene

controlada por criterios termodinámicos y se puede alterar la naturaleza superficial de la arcilla y mejorar sus propiedades superficiales físico-químicas. La ventaja del acoplamiento físico es que no se altera la estructura del material, mientras que la gran desventaja es que las fuerzas existentes entre el mineral y las moléculas adsorbidas, son débiles. El anclaje químico de polímeros funcionalizados en la superficie de las arcillas mejora claramente la interacción entre ambos, siendo de gran interés ya que se puede moldear las propiedades de estas arcillas. Existen dos maneras de llevar a cabo estas modificaciones: bien en un paso, incorporando polímeros funcionalizados, generalmente policationes, en la superficie de la arcilla,<sup>33-60</sup> o bien en dos pasos, modificando la superficie laminar con un monómero o macromonómero o un iniciador, haciendo crecer el polímero.<sup>61</sup> En la mayoría de los casos de modificación en dos pasos, se han modificado silicatos laminares con moléculas capaces de iniciar reacciones de polimerización controlada de tipo ATRP, formando homopolímeros o copolímeros de bloque con una estructura y tamaño controlados. La modificación de montmorillonita con polímeros hiperramificados y copolímeros de bloque ha sido objeto de estudio en este trabajo y se describe en los **Capítulos 4 y 5**.

## **2.5 Polímeros con actividad antimicrobiana.**

El término agente antimicrobiano se define como un material capaz de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos.<sup>62</sup> Los agentes antimicrobianos de bajo peso molecular se emplean en la esterilización de aguas, como medicamentos antimicrobianos, como conservantes de alimentos y para la esterilización de suelos.<sup>63</sup> Sin embargo, existe en estos compuestos, la limitación de toxicidad residual cuando se emplean en cantidades considerables.<sup>64</sup>

Una de las áreas en la investigación de polímeros que presenta gran interés y ha sido recientemente revisada en la literatura,<sup>65</sup> es la del desarrollo de polímeros con actividad antimicrobiana, generalmente conocidos como polímeros biocidas. En el área de aplicaciones en higiene, estos polímeros pueden ser incorporados en fibras, o incluso extruidos dentro de las mismas fibras, y usados como desinfectantes en numerosas aplicaciones biomédicas, como vendas o prendas estériles. Además, los polímeros antimicrobianos tienen la ventaja de que no son volátiles, son químicamente estables y

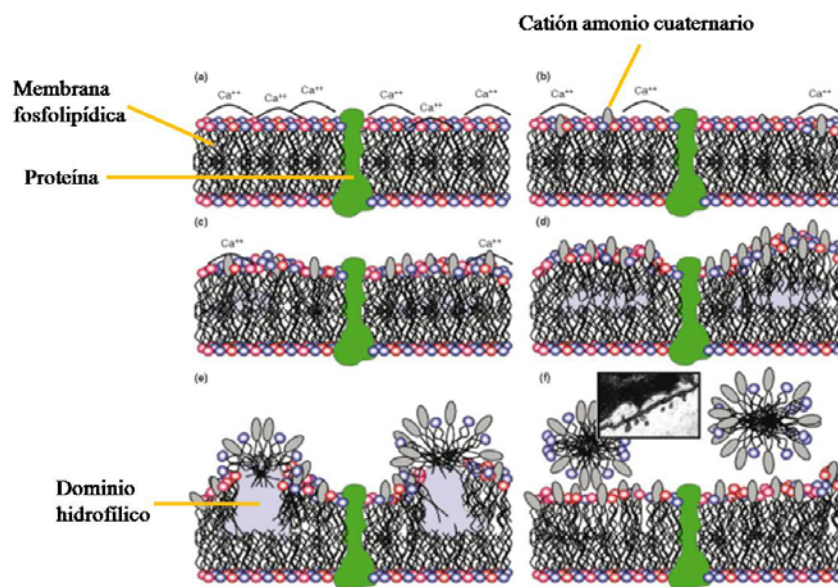


no permean a través de la piel. Por tanto reducen las pérdidas asociadas con volatilización, descomposición fotolítica y transporte.<sup>66-67</sup>

El uso de polímeros antimicrobianos ofrece la posibilidad de mejorar la eficacia de algunos agentes antimicrobianos existentes y minimizar los problemas ambientales que acompañan a los agentes antimicrobianos convencionales mediante la reducción de la toxicidad residual, aumentando su eficiencia y selectividad, y prolongar la vida útil de los mismos. Existen diversos métodos para la preparación de materiales poliméricos con actividad antimicrobiana:

- Síntesis de polímeros con grupos funcionales que poseen actividad antimicrobiana (grupos amonio, guanidina, halógenos, etc.)
- Modificación de polímeros con compuestos de bajo peso molecular o injerto de polímeros antimicrobianos.
- Mezcla con compuestos orgánicos o con otros polímeros que presenten actividad antimicrobiana.
- Adición de compuestos inorgánicos como partículas metálicas, óxidos, etc.

La incorporación de grupos de tipo amonio cuaternario es un método muy extendido.<sup>64, 68</sup> La forma de actuación de estas especies químicas ha sido estudiada y descrita en la literatura.<sup>69</sup> En la **Figura 1.4** se representa un esquema de actuación en varias etapas. Como se muestra, se da una adsorción progresiva del grupo cuaternizado en la membrana bacteriana fosfolipídica. Esto lleva a una disminución de la fluidez de las bicapas y la creación de dominios hidrofílicos en la membrana. Las funciones de las proteínas presentes en la membrana son perturbadas y eventualmente se produce una ruptura de la célula, y la solubilización de los fosfolípidos y proteínas en micelas. En el último paso de la imagen, se muestra una imagen de las vesículas formadas en la membrana externa, a causa del tratamiento con cationes amonio cuaternario.



**Figura 1.4.** Esquema de las distintas etapas del mecanismo de acción de grupos amonio cuaternario como agentes antimicrobianos.

Ya en los años 80, Ikeda y colaboradores sintetizaron policationes con grupos amonio cuaternario, y se estudió su actividad biocida frente a estafilococos y *E. coli*, observando que la actividad de las especies poliméricas era mucho mayor que la de los monómeros.<sup>70-71</sup> Los resultados posteriores han reforzado la hipótesis de que los polímeros antimicrobianos portadores de grupos amonio cuaternario, son capaces de destruir bacterias dañando la membrana exterior y la membrana citoplásmica, seguido de la ruptura celular, tanto en disolución,<sup>72</sup> como en superficies.<sup>73</sup>

Debido a la importancia de los materiales poliméricos nanocompuestos y su amplio espectro de aplicaciones en biomateriales, dispositivos biomédicos, implantes y empaquetamiento de alimentos, es de vital importancia inhibir la adhesión de microorganismos infecciosos.

Una de las estrategias que se ha empleado en este trabajo para evitar la colonización de microorganismos en la superficie de materiales poliméricos nanocompuestos ha sido la incorporación de nanopartículas con propiedades bactericidas, tales como silicatos laminares modificados con cationes amonio cuaternario (que será objeto de los **Capítulos 4 y 5**)<sup>74-81</sup> o nanopartículas de plata<sup>82-85</sup> (que será objeto del **Capítulo 7**).

Hong y Rihm<sup>74</sup> estudiaron el efecto antimicrobiano de la MMT y varias organo-arcillas comerciales (Cloisite®) en presencia de dos bacterias Gram-positivas y dos Gram-negativas, observando que la presencia de sales de amonio cuaternario en la superficie de los silicatos tenía un marcado efecto antibacteriano, y que su actividad varía cuando se incorporan a una matriz polimérica, dependiendo de la naturaleza de ésta, de la compatibilidad entre matriz y carga y del grado de intercalación/exfoliación del nanocomposite.

Lee y colaboradores<sup>76</sup> incorporaron organo-arcillas comerciales (Cloisite®) en una matriz de poliéster alifático mediante mezclado en fundido y estudiaron la biodegradación de estos materiales enterrando las muestras en suelo activado con estiércol, evaluando la biodegradación en función de la pérdida de peso de las muestras. En general, la biodegradación disminuía con un aumento de la concentración de la organo-arcilla, que fue atribuido a que la presencia de silicatos laminares distribuidos en la matriz polimérica dificultaba la difusión de los microorganismos a través del material.

Nigmatullin y colaboradores<sup>78</sup> prepararon, también por mezclado en fundido, una serie de nanocomposites con nanoarcillas tipo Cloisite® en una matriz de Nylon-6. Estudiaron el efecto biocida de estos materiales como sustratos sólidos, depositando suspensiones de *E. coli* y *S. aureus*, y observaron un fuerte efecto biocida, que aumentaba con la concentración de arcilla, denominando a los materiales preparados como superficies “auto-esterilizables”.

Meng y colaboradores<sup>80</sup> modificaron montmorillonita sódica con acetato de clorhexidina, que es un surfactante catiónico con actividad antibacteriana, y prepararon nanocomposites de PDMS/organo-MMT vía polimerización *in situ*. La actividad antimicrobiana de los materiales se evaluó midiendo la zona de inhibición que éstos producían en un cultivo de *E. coli* y *S. aureus* en agar. Mientras que el PDMS no presentaba ninguna actividad antibacteriana, los cultivos que contenían los nanocomposites con la arcilla modificada con acetato de clorhexidina mostraron una gran actividad antimicrobiana.

La formación de biofilmes sobre las superficies depende de numerosos parámetros, aunque la rigidez, la rugosidad, la presencia de cargas y el carácter hidrófilo parecen jugar un papel relevante en muchos ejemplos descritos. El control de la estructura

superficial (“patterning”) es crítico para facilitar interacciones deseadas, limitar la adsorción de especies indeseadas o alterar el comportamiento de adhesión o fricción. En los últimos años se ha hecho un gran esfuerzo en el desarrollo de tecnologías para la preparación de materiales con geometrías superficiales micro y nanoestructuradas complejas, de las que dependerá su actividad superficial, por ejemplo tratamiento con plasma<sup>86-88</sup> o litografía.<sup>89</sup> En el presente Trabajo, el **Capítulo 4, Parte III** describe el proceso de tratamiento con plasma de los nanocomposites basados en PCL/MMT y en el **Capítulo 7** se presenta el trabajo dedicado a la preparación mediante litografía, de nanocomposites basados en PVA/nanopartículas de plata con superficie estructurada. El tratamiento con plasma de radiofrecuencia empleando gases y reactivos específicos, puede dar lugar a la modificación de la química y las propiedades de las superficies de sustratos con respecto al material inicial. La mayoría de los estudios dedicados a la adhesión bacteriana en polímeros se centran en el control a través de las interacciones físico-químicas con la superficie, sin embargo la relación entre la topografía superficial y la adhesión bacteriana sigue siendo objeto de estudio<sup>90</sup> y requiere la inversión de un mayor esfuerzo investigador para el desarrollo de nanocomposites con estructura superficial y el estudio de la adhesión bacteriana en función de la topografía y carácter hidrofílico/hidrofóbico de la arcilla.

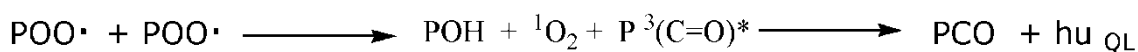
## 2.6 Estabilidad térmica.

La degradación en polímeros es un problema de gran envergadura industrial y enorme complejidad debido a los mecanismos implicados. La degradación de polímeros se refiere a los procesos inducidos por la luz, calor, humedad, hongos, bacterias y otros agentes atmosféricos, que conducen a cambios químicos; formación de grupos funcionales, que provocarán cambios en las propiedades del polímero: aumento de fragilidad, decoloración, pérdida de propiedades como resistencia a la tracción y alargamiento. De ahí, que el estudio de la degradación-estabilización de polímeros constituya un área de investigación de gran importancia científica e industrial, puesto que limita su tiempo de vida útil.

Es bien conocido que los materiales polímeros cargados con silicatos laminares presentan una gran mejora de las propiedades mecánicas y térmicas,<sup>25</sup> en relación a los

polímeros sin carga y a los microcomposites, incluso a bajas concentraciones de carga, debido a las interacciones a nanoescala con la matriz polimérica. Se conocen los mecanismos generales de degradación y estabilización de materiales polímeros desde hace tiempo. Sin embargo, no existen estudios sistemáticos que aborden este problema en los materiales nanocompuestos.<sup>91-92</sup>

El análisis de emisión de quimioluminiscencia ha resultado ser una técnica muy útil para el estudio de la degradación de polímeros,<sup>93</sup> principalmente debido a su alta sensibilidad para la detección de las primeras etapas de oxidación en el polímero, antes de que se produzca una pérdida aparente en las propiedades físicas o químicas del material. La reacción bimolecular de hidroperóxidos genera un grupo cetónico en el estado excitado triplete y su posterior desactivación radiativa genera emisión de luz, quimioluminiscencia, en la región del visible, **Figura 1.5**. La emisión de quimioluminiscencia puede relacionarse con la concentración de peróxidos (POOH) de un polímero.



**Figura 1.5.** Mecanismo de generación de quimioluminiscencia de polímeros.

Mediante el análisis de QL es posible evaluar el estado de oxidación del material y su estabilidad a largo plazo, en función de la estructura del polímero, condiciones de procesado, tamaño y concentración de cargas y aditivos en general, evaluar la actividad de estabilizantes y llevar a cabo estudios mecanísticos, etc.<sup>93-96</sup>

## **CAPÍTULO 3**



## PARTE EXPERIMENTAL

### 3.1 Técnicas de caracterización.

#### 3.1.1 Espectroscopías y difracción de Rayos X.

Los espectros de absorción UV se registraron en disolución en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro *UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35* de doble haz.

Los espectros de fluorescencia se registraron en disolución en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro *Perkin-Elmer LS-50B*.

El equipo para medir el decaimiento de la intensidad de fluorescencia con el tiempo es un instrumento no comercial.<sup>97</sup> Este equipo permite la contabilización de fotones individualmente, y su correlación temporal en picosegundos. El equipo se sitúa en una mesa óptica en una habitación con temperatura controlada a 22 °C. Cuenta con un láser (*Spectra-Physics Millennia Xs CW DPSS*) como fuente de excitación, un fotomultiplicador (*MCP-PMT*) y un detector (*Canberra Nuclear Instrumentation Module TCSPC*). Las muestras fueron irradiadas con una longitud de onda de excitación de 477 nm, y la emisión se recogió a una longitud de onda de 524 nm.

Los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro *Perkin-Elmer BX-FTIR*. Para los experimentos de reflectancia total atenuada (ATR) se acopló el accesorio *MIRacle<sup>TM</sup>ATR* de *PIKE Technologies*. Los espectros de los copolímeros del **Capítulo 4** y de los materiales correspondientes al **Capítulo 6** se realizaron mediante la preparación de las muestras en pastillas de KBr.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (<sup>1</sup>H RMN) se hicieron en disolución de CDCl<sub>3</sub> en un equipo *Bruker AM-400 Instrument* a 400 MHz.

Los difractogramas de rayos X (RX) se registraron a temperatura ambiente con un difractómetro *X Bruker D8 Advance* equipado con un generador de RX monocromático de ánodo rotativo y trabajando en modo reflexión. Se aplicaron un voltaje de aceleración y una corriente de 40 kV y 35 mA, respectivamente, utilizando la radiación



$K_{\alpha}$  del Cu ( $\lambda=0,154$  nm) provista de un filtro de Ni. El calibrado del equipo se realizó con una muestra de Si puro.

Los datos proporcionados por los haces difractados se almacenaron en un ordenador conectado al equipo de forma continua; siendo la velocidad de barrido de  $1^{\circ}/\text{min}$ . La distancia entre las láminas de arcilla ( $d_{001}$ ) se calculó mediante la ecuación de Bragg:

**Ecuación 3.1** 
$$2d\sin\theta = n\lambda$$

donde  $\lambda$  es la longitud de onda de los RX incidentes,  $n$  es un número entero y  $\theta$  es el ángulo incidente.

### 3.1.2 Medida de ángulos de contacto y tensión superficial.

Las medidas de ángulos de contacto estáticos han sido realizadas con el tensiómetro *CAM 200 KSV* a una temperatura de  $22\pm0,5^{\circ}\text{C}$ . El equipo está provisto de una cámara *CCD* con zoom óptico telecéntrico y con fuente de luz estroboscópica. El dispensador de gota automático utilizado ha sido una jeringa de precisión *Hamilton* (1 mL) con aguja de 0,71 mm de diámetro. Los ángulos de contacto estáticos se midieron a partir de fotografías digitales de gotas de agua milli-Q y de diiodometano, en contacto directo con las muestras, colocadas en soportes de vidrio. La interfase fue en todos los casos el aire. Se realizó un promedio de 5 medidas en diferentes puntos de cada uno de los filmes. Los valores de energía libre superficial y sus componentes polar y dispersiva se estimaron utilizando la aproximación de Owens-Wendt.<sup>98</sup> Las dimensiones de los filmes fueron de 10 x 100 mm.

### 3.1.3 Técnicas microscópicas.

#### 3.1.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido Medioambiental (ESEM).

La morfología superficial de los materiales se estudió con un microscopio electrónico de barrido *Philips XL 30* operando en modo convencional de alto vacío con un voltaje de aceleración de 25 kV. La microscopía medioambiental ESEM permite realizar el análisis de muestras sin necesidad de metalizar. Sin embargo, para mejorar el contraste, las micrografías se realizaron metalizando la superficie de las muestras con un

recubrimiento de aproximadamente 3 nm de espesor de una aleación Au-Pd, un equipo Polaron SC7640 (10 minutos y una corriente de 800V y 10 mA).

En el caso de las muestras sometidas a tratamiento con plasma, las superficies de éstas se observaron con una inclinación de 35° para apreciar la rugosidad.

La superficie de los materiales de PVA y PVA/Ag después de los experimentos de adhesión bacteriana se observaron sin metalizar en un microscopio de emisión de campo FE-SEM Hitachi SU8000, con un voltaje de aceleración de 0.5 kV.

#### 3.1.3.2 Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM).

Las micrografías se obtuvieron con un microscopio de transmisión electrónico Zeiss operando con un voltaje de aceleración de 100 kV. Las muestras obtenidas a partir de filmes se cortaron con un ultracriomicrotomo Leica provisto de una cuchilla de diamante *Diatome* y se obtuvo una sección de aproximadamente 40 nm de espesor.

Para preparar las muestras para TEM, las nanopartículas de magnetita se dispersaron en hexano y las de los materiales híbridos en agua, seguidamente, estas dispersiones se depositaron en rejillas de cobre recubiertas con carbono.

#### 3.1.3.3 Microscopía confocal de fluorescencia.

Las imágenes de microscopía confocal de fluorescencia se obtuvieron con un microscopio láser de barrido Leica TCS SP5 (Wetzlar, Alemania) y un objetivo seco HC PL APO CS 0.4 10X (baja magnificación). Para excitar la sonda se empleó un láser de argón.

#### 3.1.3.4 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

La microscopía de fuerza atómica es una técnica de imagen de alta resolución que permite el análisis de superficies a una escala muy pequeña, permitiendo obtener propiedades físicas de las muestras del orden de nanómetros. Se pueden obtener imágenes tridimensionales de la superficie de muestras tanto conductoras como aislantes sin ninguna preparación especial de las muestras.

El AFM trabaja llevando la punta del cantilever en contacto con la superficie de la cual se va a hacer la imagen. Una fuerza repulsiva desde la superficie a la punta dobla el cantilever hacia arriba. El láser incide sobre la punta con la que se realiza el barrido. A medida que se hace el barrido correspondiente, se producirá una deflexión de la punta que se traducirá en un cambio en la posición de incidencia del láser en el fotodetector que se puede usar para calcular la fuerza. Al mantener la fuerza constante mientras la punta recorre la superficie, el movimiento vertical de la punta sigue el perfil de la superficie y se graba la topografía de la superficie.

Las medidas de AFM se realizaron con un equipo *Veeco* modelo *Multimode* con un microscopio *Nanoscope IVa* operando en modo de contacto intermitente (“*tapping*”). El cantilever utilizado fue del modelo *RTESP* y el material de la punta de silicio dopado con fósforo, la frecuencia de 300 Hz, una velocidad de barrido de 0.5 Hz y la constante de fuerza se fijó entre 20-80 N/m. El software empleado para el análisis de las imágenes fue V6.14r1.

#### 3.1.3.5 Microscopio confocal.

El microscopio confocal utilizado para caracterizar las superficies de las obleas de silicio fue un  $\mu\text{Surf}^{\circledR}$  de la casa *NanoFocus AG* (Oberhausen, Alemania).

#### 3.1.3.6 Microscopio óptico.

Las imágenes de microscopía óptica fueron tomadas en un equipo Nikon Eclipse E400 acoplado a una cámara Prog Res CT3.

### **3.1.4 Técnicas de análisis térmico.**

#### 3.1.4.1 Análisis Termogravimétrico (TGA).

Los termogramas de los distintos materiales se obtuvieron con una termobalanza *TA Instrument Analysis TGA Q500-0885* bajo atmósfera de nitrógeno o aire. En condiciones dinámicas se mantuvo para todas ellas una velocidad de calentamiento constante e igual a 10 °C/min en el intervalo de temperaturas desde 25 °C hasta 800 °C.

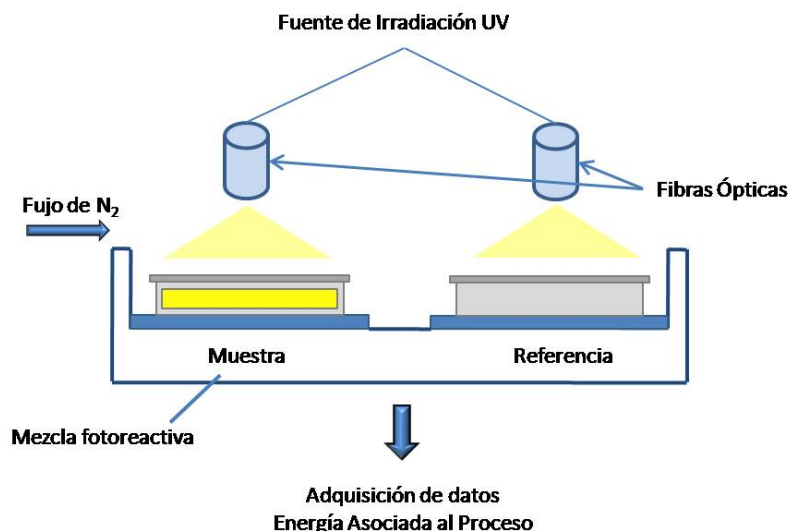
Los experimentos isotermos se llevaron a cabo a 250 °C bajo un flujo de aire. El peso de muestra analizado estuvo comprendido en el intervalo 5-10 mg.

#### 3.1.4.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

En este Trabajo se ha utilizado un calorímetro *Mettler-DSC-821e*, previamente calibrado con tres patrones: n-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub> (T<sub>m</sub> = -57.00 °C; ΔH<sub>m</sub> = 181 J/g), In (T<sub>m</sub> = 156.60 °C; ΔH<sub>m</sub> = 28.45 J/g) y Zn (T<sub>m</sub> = 419.50 °C; ΔH<sub>m</sub> = 107.50 J/g), y acoplado con un sistema de enfriamiento *Intracooler TC100 Huber*, con dos finalidades:

-Determinación de la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>), temperatura de fusión (T<sub>m</sub>) y grado de cristalinidad (%X<sub>c</sub>) de los nanocompuestos. Las condiciones experimentales utilizadas se detallan en la parte experimental de cada capítulo.

-Para el seguimiento de las reacciones de fotopolimerización de los nanocompuestos descritos en el **Capítulo 5**. El calorímetro se utilizó acoplado a una fuente de irradiación *UV Hg-Xe LC8 Lightningcure™ Hamamatsu*, mediante dos fibras ópticas que permite la irradiación simultáneamente a la obtención de las curvas exotérmicas en el calorímetro. Una cantidad de 15 mg de una formulación basada en la mezcla de los monómeros acrílicos, el fotoiniciador y la cantidad de la arcilla deseada en cada caso, se deposita en un crisol de aluminio en el pocillo del calorímetro, se evacúa el oxígeno mediante corriente de nitrógeno y se comienza la reacción mediante la apertura del obturador de la lámpara. Todas las reacciones se llevaron a cabo a 30 °C bajo un flujo de nitrógeno seco de 60 ml/min, y a una intensidad de luz incidente de 0.3 mW/cm<sup>2</sup>. Un esquema del fotoDSC se ilustra en la **Figura 3.1**.

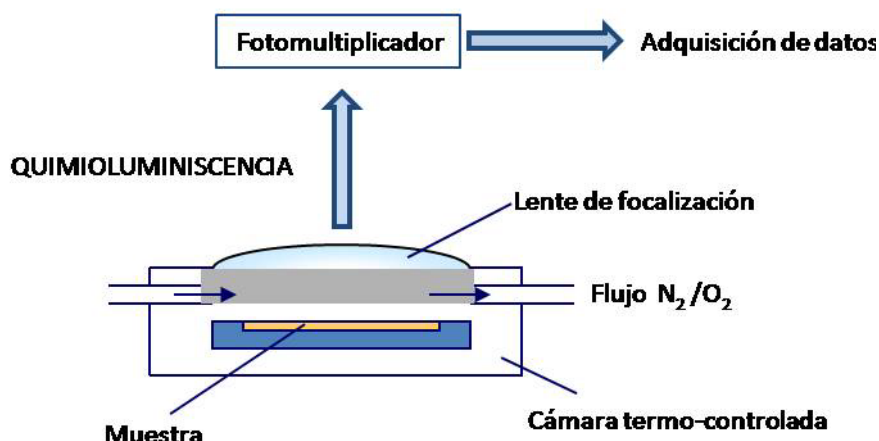


**Figura 3.1.** Representación esquemática del fotoDSC utilizado para este trabajo.

#### 3.1.4.3 Quimioluminiscencia.

La emisión de quimioluminiscencia (QL) se midió en un equipo *CL400 ChemiLume<sup>TM</sup> Analyzer* (Atlas Electric Devices Company) provisto de cuatro hornos con calefacción y alimentación de gas ( $N_2/O_2$ ) independiente (60 ml/min). Las muestras objeto de estudio se colocan centradas sobre una cápsula de aluminio de 20 mm de diámetro. Una vez colocadas las muestras en los compartimentos de los correspondientes hornos, se cubren con una lente óptica que focaliza la luz emitida desde la muestra hacia el fotomultiplicador (*Hamamatsu R1527P*) refrigerado por un circuito de agua a 19 °C y de respuesta espectral prácticamente constante entre 185 y 600 nm.

El fotomultiplicador fue previamente calibrado con un patrón radiactivo suministrado por *Atlas* siguiendo las instrucciones del fabricante. El equipo posee una calibración interna para el tubo fotomultiplicador (contador de fotones) frente a la intensidad (mV) alcanzada. Dependiendo de la emisión de quimioluminiscencia esperada y para evitar la saturación del tubo fotomultiplicador es posible seleccionar diferentes niveles de sensibilidad (ganancia alta o baja) del mismo. En las medidas realizadas en atmósfera de oxígeno y nitrógeno se selecciona ganancia baja y alta, respectivamente. En la **Figura 3.2** se muestra un esquema del equipo de quimioluminiscencia.



**Figura 3.2.** Esquema del equipo de quimioluminiscencia.

Las medidas dinámicas se llevaron a cabo con una velocidad de calentamiento de 2°/min en el intervalo de temperaturas de 25-250°C y con un flujo constante (60 ml/min) de nitrógeno u oxígeno.

### 3.1.5 Propiedades mecánicas.

Los ensayos mecánicos de tracción se llevaron a cabo en un dinamómetro *MTS QTEST Elite* empleando una célula de carga *MTS 1000N*. Las medidas se han realizado en probetas de tipo halterio de dimensiones 3 x 10 mm a una velocidad de ensayo de 50 mm/min y a temperatura ambiente. Los resultados corresponden al valor de la media aritmética de 5 medidas.

Las medidas de Microdureza (MH) se hicieron en un indentador Vickers unido a un microdurómetro *Leitz* y se llevaron a cabo a 23°C. La carga de contacto empleada fue de 0.98N y el tiempo de carga 25 s. Los valores de Microdureza (en MPa) se calcularon de acuerdo a la siguiente relación<sup>99</sup>:

**Ecuación 3.2** 
$$MH = 2Psen68/d^2$$

donde P (en N) es la carga de contacto y d (en mm) es la media aritmética de las dos longitudes diagonales, *d1* y *d2*, del área proyectada de indentación.

### **3.1.6 Ensayos biológicos.**

#### 3.1.6.1 Cultivos celulares sobre los materiales PCL/MMT.

##### Estabilización de las muestras para estudios de biocompatibilidad

Los filmes de PCL con y sin arcillas se cortaron en trozos circulares, se esterilizaron mediante 1 hora de irradiación UV por cada lado, y se sumergieron en Modified Eagle's Medium (DMEM, *Sigma-Aldrich*) con penicilina (800 µg/mL, *BioWhittaker Europe*, Bélgica) durante 24 horas a 37 °C.

##### Adhesión celular y estudios de proliferación.

Se sembraron fibroblastos murinos L929 en todos los filmes de PCL estudiados, previamente introducidos en placas de cultivo de 6 pocillos, con una concentración de  $10^5$  células/mL en medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, *Sigma-Aldrich*) suplementado con suero fetal bovino 10% vol/vol (FBS, *Gibco*), 1 mM L-glutamina penicilina (200 µg/mL), y estreptomicina (200 µg/mL), todos adquiridos a *BioWhittaker Europe* (Bélgica), bajo una atmósfera del 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C. El medio de cultivo se renovó cada dos días. Se utilizó poliestireno de cultivo tisular como superficie de control. Para evaluar la adhesión celular y la proliferación sobre los sustratos después de 1, 4 y 6 días de cultivo, el medio fue aspirado y las células, recolectadas mediante tratamiento con una solución de 0.25% de tripsina-EDTA, fueron contadas con un hemocitómetro *Neubauer*. Las células no adheridas se eliminaron previamente mediante un lavado con PBS.

##### Medida de liberación de lactato deshidrogenasa al medio

La actividad lactato deshidrogenasa (LDH) fue medida en el medio de cultivo mediante método enzimático a 340 nm (BioAnalítica, S. L.) usando un espectrómetro *Beckman DU 640 UV-Visible*. El medio se recogió después de cada cultivo, se centrifugó 2 minutos a 12000 xg a 4 °C, y el ensayo enzimático se llevó a cabo en el sobrenadante.

##### Estudios de citometría de flujo.

Las células se cultivaron durante 1, 4 y 6 días sobre todas las muestras. A los distintos tiempos, los cultivos se lavaron dos veces con PBS y se incubaron a 37 °C con solución de tripsina-EDTA para despegar las células. Después de 5-10 minutos se detuvo la

reacción con medio de cultivo, las células se centrifugaron a 310 xg durante 10 minutos y se resuspendieron en medio fresco.

Después de la incubación con diferentes sondas, como se describe a continuación, se establecieron las condiciones de análisis y adquisición de datos utilizando controles positivos y negativos con el *CellQuest Program* de *Becton Dickinson*, y estas condiciones se mantuvieron durante todos los experimentos. Cada experimento fue realizado 3 veces. Para los estudios estadísticos, al menos 10000 células fueron analizadas en cada muestra.

#### Análisis del ciclo celular y de la fracción SubG1 como parámetro indicativo de apoptosis.

Las suspensiones celulares se incubaron con Hoechst 33258 (*PolySciences, Inc.*) (Hoechst 5µg/mL, etanol 30% vol/vol, y BSA 1% peso/vol en PBS), utilizado como sonda para tinción del DNA, durante 30 minutos en ausencia de luz. La fluorescencia fue medida con una  $\lambda_{\text{exc}} = 350$  nm y una  $\lambda_{\text{em}} = 450$  nm en un citómetro de flujo *LSR Becton Dickinson*. El porcentaje de células en cada fase del ciclo se calculó con el software CellQuest de *Becton Dickinson* y la fracción SubG1 se utilizó como indicativo de apoptosis.

#### Tamaño y complejidad celular.

Las propiedades de dispersión de luz se examinaron mediante citometría de flujo en un citómetro de flujo FACScalibur *Becton Dickinson*, midiendo los parámetros Forward Scatter (FSC) y Side Scatter (SSC) como indicadores del tamaño celular y la complejidad, respectivamente.

#### Viabilidad celular.

La viabilidad celular se evaluó por exclusión de yoduro de propidio (PI; 0.005% peso/vol. en PBS, *Sigma-Aldrich*). El PI se añadió a las suspensiones celulares para teñir las células muertas. La fluorescencia del PI se excitó a 488 nm con un láser de 15 mW y la fluorescencia emitida se midió con un filtro de 530/30 en un citómetro de flujo FACScalibur *Becton Dickinson*.



### 3.1.6.2 Medidas indirectas de impedancia de la biodegradación de los materiales PCL/MMT.

La biodegradación aeróbica de los filmes de PCL por bacterias se llevó a cabo a 30 °C en biorreactores de 7 mL de capacidad, en los que se dispusieron 1.5 mL de suspensión bacteriana en Medio Mínimo de Crecimiento (MGM) con una concentración bacteriana de  $2.5 \times 10^7$  células/mL, preparada como se ha descrito previamente<sup>100</sup>. Las cepas de bacterias utilizadas en los inóculos fueron *B. subtilis* CECT 356, *P. putida* CECT 324T.

La composición de MGM usada en este trabajo fue la siguiente:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  8 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{NaSO}_4$  0.5 g,  $\text{ZnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  8 mg,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  8 mg,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  10 mg,  $\text{CaCl}_2$  0.05 g y 1000 mL de agua destilada.

A continuación, dos discos de 4 mm de diámetro (3 mg aproximadamente) se añadieron al medio. Estos biorreactores se introdujeron en contenedores cilíndricos de valoración desechables de 20 mL cargados con una disolución acuosa de 1.5 ml de 2 g/l KOH. Estos recipientes de valoración están provistos de dos pares de electrodos de acero inoxidable para medir la impedancia media de ambos electrodos en el equipo *Bac-Trac 4300* de la firma Sy-Lab.

El equipo registra en función del tiempo (cada 20 minutos) el cambio relativo en la impedancia inicial de la disolución de KOH, que posteriormente se convierte en cantidad de  $\text{CO}_2$  producido en la biodegradación mediante una curva de calibración de impedancia frente a la concentración de  $\text{CO}_2$ . EL porcentaje de biodegradación (mineralización) de las muestras se puede calcular teniendo en cuenta la cantidad teórica de dióxido de carbono en la mineralización considerando el peso de muestra:

**Ecuación 3.3**  $\% \text{ biodegradación} = [\text{CO}_2] \times 100 / [\text{CO}_2]_{\text{Teórico.}}$

### 3.1.6.3 Adhesión bacteriana en los materiales basados en HEMA/PEGDMA.

Las cepas utilizadas para este estudio fueron *Bacillus subtilis* (DSM-No1088) y *Pseudomonas aeruginosa* (DSM-No288), ambas obtenidas de la Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares (DSMZ GmbH, Braunschweig, Alemania). Las suspensiones bacterianas para los inóculos se prepararon previamente, fijando una absorbancia de 1.0 a 550 nm ( $\text{DO}^{550} = 1$ ) en una disolución salina (0.9 g/L NaCl). Se

añadió un mililitro de esta disolución a 150 mL de caldo de cultivo nutriente (composición en p./v.: 0.5% peptona, 0.3% extracto de vaca y pH neutro a 25 °C) en un vaso Erlenmeyer (aproximadamente  $10^7$  células/mL). Los materiales en forma de laminas se depositaron en la suspensión, siguiendo un método de ensayo de adhesión bacteriano adaptado a partir del protocolo establecido por Tiller *et al*<sup>101</sup> y se incubaron a 37 °C bajo agitación constante de 150 rpm (*ELMI, Model sky-line shaker dos-20M*) durante 2 horas. Después de la incubación, las muestras se lavaron con agua estéril y se secaron. Las láminas de los materiales se dispusieron en cajas Petri con agar de crecimiento (0.7% agar en caldo de levadura/dextrosa, previamente autoclavado y enfriado) e incubados a 37 °C durante una noche, para evaluar la capacidad de adhesión de las bacterias al polímero.

#### 3.1.6.4 Medidas indirectas de impedancia para valoración de la producción de dióxido de carbono de los materiales PVA/Ag.

Se prepararon muestras de PVA y PVA/1%Ag de 0,5 mm de diámetro, que se dispusieron en biorreactores conteniendo 2 mL de medio de cultivo trypticasa-soya broth (TSB) con inóculo de una suspensión bacteriana de  $1,25 \times 10^6$  células/ml de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativo). El cultivo se mantuvo a 37°C durante 24 horas evaluando con el tiempo (cada 20 min) la producción de dióxido de carbono por medidas indirectas de impedancia, tal y como se describe en el apartado **3.1.6.2** de este capítulo.

#### 3.1.6.5 Adhesión bacteriana en los materiales de PVA/Ag

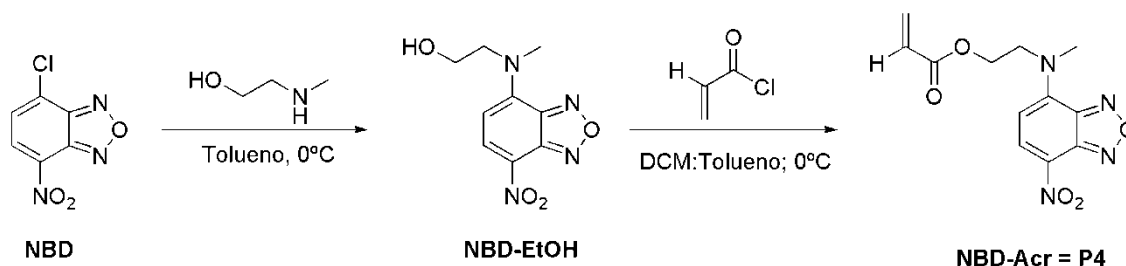
Para el estudio de adhesión en los materiales de PVA se prepararon suspensiones bacterianas de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (DSM-No288) y, para el inóculo, se fijó una absorbancia de 1.0 a 550 nm ( $DO^{550} = 1$ ) en una disolución salina (0.9 g/L) diluyendo posteriormente 1/100 con suero fisiológico y procediéndose a la incubación a 37°C durante 18 horas. Los materiales de PVA se sumergieron en esta suspensión durante 30 minutos y se dejaron secar en estufa a 40°C durante 20. Las láminas de los materiales se dispusieron en placas Petri con agar de crecimiento y se incubaron a 37 °C durante 24 horas para evaluar la capacidad de adhesión de las bacterias al polímero.

## 3.2 Parte Experimental del Capítulo 4.

### 3.2.1 Materiales.

Los reactivos poli ( $\epsilon$ -caprolactona) diol ( $M_n=2000$  g/mol, **P1**), bromuro de 2-bromoisobutiril (98%, **P2**), biperidina, trietilamina, 2-(dietilamino)etil metacrilato (**P3**), 2-(N-metil) aminoetanol, cloruro de metacrililoilo, trietilamina y la poli ( $\epsilon$ -caprolactona) ( $M_n = 80,000$  g/mol) se utilizaron sin purificación previa. El cloruro de cobre se purificó siguiendo el método de Keller y Wrcoff.<sup>102</sup> La arcilla empleada fue Montmorillonita k10 (MMT-k10) caracterizada por un área superficial de 220-240 m<sup>2</sup>/g y capacidad de intercambio catiónico de 92 meq/100 g, fue purificada como se describe en el apartado **3.2.3.1** de este capítulo. Los disolventes empleados fueron Tolueno (BDH, 98%) que fue desgasificado burbujeando nitrógeno seco durante 30 minutos, diclorometano, acetato de etilo, éter dietílico y agua Milli-Q. Todos los reactivos y disolventes anteriormente nombrados fueron suministrados por Aldrich

La sonda fluorescente N-(2-acriloxietil)-N-metilamino-NBD (**NBD-Acr**, **P4**) fue sintetizada de acuerdo al procedimiento descrito en la literatura,<sup>103</sup> **Figura 3.3**. En un matraz de tres bocas bajo atmósfera de nitrógeno, se disolvieron en tolueno 19.96 g (0.1 mol) de 7-nitro-benz-2-oxa-1,3-diazol (**NBD**), y la disolución se enfrió en baño de hielo. 0.3 moles de 2-(N-metil) aminoetanol se añadieron gota a gota a la disolución con agitación. Una vez que la reacción hubo terminado, se llevó a temperatura ambiente. El sólido marrón obtenido fue separado y triturado en cloroformo frío, y se recrystalizó dos veces en etanol, para dar cristales naranjas de N-(2-hidroxietil)-N-metilamino-NBD (**NBD-EtOH**) con un rendimiento del 70%. En un matraz de tres bocas se disolvieron 0.50 g ( $1.7 \times 10^{-3}$  mol) del compuesto obtenido junto con 0.2 g ( $2 \times 10^{-3}$  mol) de trietilamina en 20 mL de una mezcla diclorometano:Tolueno 80:20. La mezcla se enfrió en baño de hielo y se añadieron 0.23 g ( $2 \times 10^{-3}$  mol) de cloruro de metacrililoilo disueltos en 5 mL de diclorometano bajo agitación constante. Después de 10 horas, se eliminaron los disolventes bajo presión reducida, el sólido obtenido se purificó en columna de gel de sílice usando una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 80:20 como eluyente. El aceite naranja obtenido se recrystalizó en Et<sub>2</sub>O, el rendimiento de la reacción fue del 60%.



**Figura 3.3.** Síntesis de la sonda fluorescente NBD-Acr (**P4**).

### 3.2.2 Síntesis y cuaternización del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD

La síntesis del copolímero de bloque se ha llevado a cabo vía Polimerización Radical por Transferencia de Átomo (ATRP) a partir de un macroiniciador biodegradable de PCL, para obtener un polímero anfifílico tribloque ABA, donde A es PDEAEMA-NBD y B es PCL.

#### 3.2.2.1 Síntesis del macroiniciador de PCL.

El macroiniciador de PCL (**P1**) se preparó siguiendo el método descrito en la bibliografía.<sup>104</sup> El bromuro de 2-bromoisobutiril (9.3 mL, 75 mmol) y trietil amina (10.5 mL, 75 mmol) se añadieron a una disolución de poli ( $\epsilon$ -caprolactona) diol ( $M_w = 2000$  g/mol) en THF anhidro bajo flujo de nitrógeno. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 24 horas. Las sales precipitadas se retiraron del medio de reacción por filtración y los volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El aceite viscoso obtenido se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lavó con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico anhidro. El producto sólido blanco que se obtuvo se eluyó a través de una columna de alúmina básica con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . El rendimiento de la reacción fue del 70%.

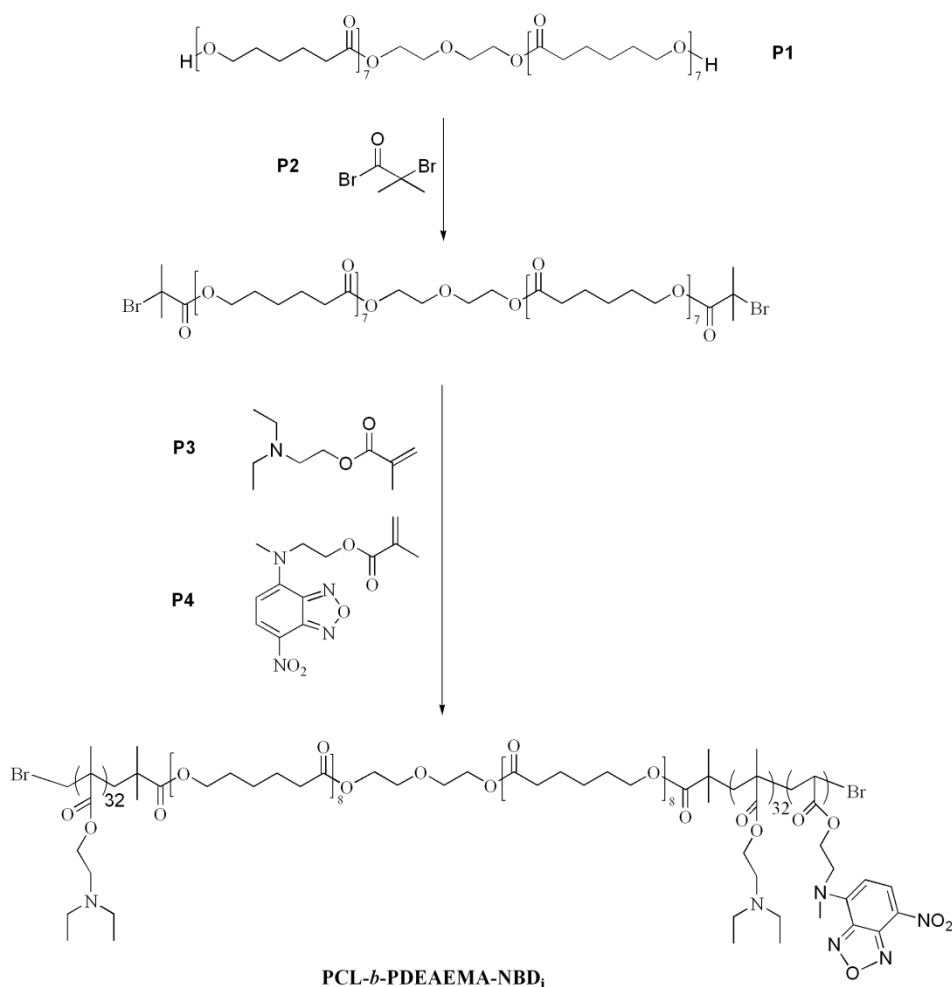
#### 3.2.2.2 Síntesis del copolímero vía ATRP.

La estrategia de la síntesis se muestra en la **Figura 3.4**. La relación de concentraciones entre el iniciador, catalizador y ligando fue de  $([I]:[C]:[L]=1:2:4.2)$ . La relación de concentración de monómero frente al iniciador fue 70:1, a continuación se detalla el procedimiento. El macroiniciador basado en PCL (2g, 0.88 mmol, **P1**) se depositó en un

matraz de tipo Schlenk, y se disolvió y desoxigenó en tolueno (60ml). El monómero DEAEMA (9.2 mL, 46 mmol, **P3**) y la sonda fluorescente (**NBD-Acr**, 0.257 g, 0.88 mmol, **P4**) se añadieron a la disolución, y la mezcla se desgasificó mediante tres ciclos de congelación-vacío-descongelación. El CuCl (0.174 g, 1.76 mmol) se añadió a la mezcla congelada y se desoxigenó mediante tres ciclos de vacío/N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción, bajo atmósfera de nitrógeno se introdujo en un baño de aceite a 80 °C. Una vez que la disolución alcanzó la temperatura deseada de 80 °C, se añadió el ligando bipyridina (0.58 g, 3.7 mmol). Se observó que, al añadir el ligando, la mezcla de reacción fue adquiriendo un color marrón cada vez más oscuro.

Cada cierto tiempo se recogía una alícuota del medio de reacción para seguir la polimerización mediante <sup>1</sup>H-RMN en DCCl<sub>3</sub>. En el espectro de RMN se identifican las señales del monómero y las del polímero a partir de las cuales se calcula la conversión a diferentes tiempos de conversión. La reacción finalizó después de 290 minutos, exponiendo la mezcla de reacción al aire y obteniendo una conversión del 80%.

La masa de reacción se eluyó a través de una columna cromatográfica de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> básica en tolueno. El disolvente se eliminó en rotavapor a presión reducida y el residuo se secó a temperatura ambiente a alto vacío.



**Figura 3.4.** Síntesis del copolímero de bloque fluorescente PCL-*b*-PDEAEMA-NBD<sub>i</sub>.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).  $\delta$  (ppm): 1.38 [m, 17  $\text{O}_2\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O-PCL}$ , 34H], 1.65 [m, 34  $\text{O}_2\text{C-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-PCL}$  68H], 2.31 [t, 17  $\text{O}_2\text{C-CH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{O-PCL}$ , 34H], 0.89-1.07 [m, 6,  $\text{N-(CH}_2\text{-CH}_3)_2\text{-DEAEMA}$  420H], 1.82-1.95 [m, 3,  $\text{CH}_3\text{-C-DEAEMA}$  210H], 2.57-2.72 [m, 4,  $\text{N-(CH}_2\text{-CH}_3)_2\text{-DEAEMA}$  280H].

El contenido de sonda fluorescente anclada al copolímero PCL-*b*-PDEAEMA-NBD<sub>i</sub> se determinó mediante espectroscopía de absorción UV-Vis. Para ello, se preparó una disolución del copolímero de bloque de  $10^{-5}$  M en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y se utilizó la ley de Lambert-Beer que relaciona la absorción de una muestra con la concentración de grupos cromóforos responsables de dicha absorción. Tomando el valor del coeficiente de absorción molar de la sonda fluorescente utilizada<sup>103</sup> en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $\epsilon = 1.56 \times 10^4 \text{ L cm}^{-1}$

$\text{mol}^{-1}$  a la longitud de onda máxima de absorción, 467 nm), se ha determinado una concentración de 1.7 % en peso de sonda fluorescente en el copolímero.

#### 3.2.2.3 Cuaternización del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NDB<sub>i</sub>.

Para cuaternizar las aminas presentes en los bloques de PDEAEMA, el sólido obtenido de la reacción se disolvió en 200 mL de metanol y se añadió a 300 mL de una disolución de HCl 0.5 M. La mezcla de reacción se liofilizó aislando 8.3 g de un sólido naranja con un rendimiento del 98%.

### **3.2.3 Preparación de los materiales nanocompuestos.**

#### 3.2.3.1 Modificación de la MMT con el copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD.

Para obtener MMT monocationica, ésta se suspendió en agua desionizada en una proporción de 50 g/L, y se añadió la misma cantidad de cloruro sódico a la mezcla, agitándose durante una hora. La arcilla obtenida se lavó repetidamente con agua desionizada hasta que no se detectaron restos de iones cloruro por valoración del filtrado con una disolución 0.1 N de  $\text{AgNO}_3$ . La arcilla se suspendió de nuevo en agua desionizada (10 g/L) y se agitó durante una semana, después se dejó sedimentar durante otra semana más. La fracción sobrenadante se separó del resto sedimentado, y se empleó para la modificación orgánica. La MMT obtenida de esta forma fue la que se utilizó para todo el trabajo que se expone en esta memoria.

El copolímero PCL-b-PDEAEMA-NBD se disolvió en metanol y se añadió a la suspensión de arcilla en agua, en una proporción de 0.5 g de copolímero por cada gramo de MMT, y se dejó reaccionar durante 48 horas bajo agitación. La suspensión se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos y el sólido obtenido se lavó con agua y después con metanol. La arcilla organo-modificada se secó a vacío a 40 °C durante 12 horas.

### 3.2.3.2 Preparación de los nanocomposites por mezclado en fundido.

Los materiales nanocompuestos se prepararon por mezclado en fundido en un mezclador/extrusor *Haake MiniLab II Micro Compounder* que cuenta con dos husillos de giro contra-rotante. Primero se prepararon mezclas de PCL con una concentración del 20 % en peso de arcilla MMT-k10 o MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>, a 90 °C con una velocidad de giro de los husillos de 50 rpm, durante 10 minutos. A partir de estas mezclas se prepararon mezclas con concentraciones de arcilla al 10, 6, 4, 2 y 1 %, la temperatura de procesado fue 90 °C, el tiempo de mezclado 10 minutos y la velocidad de los husillos 80 rpm.

Se prepararon filmes de los materiales obtenidos mediante moldeo por compresión en una prensa *Collin P200P*. Se utilizó un programa de tres etapas para el moldeo: 1) 2 minutos a 100 °C y 0 bar, 2) 2 minutos a 100 °C y 200 bar, y 3) 1 minuto de enfriamiento entre placas refrigeradas, a 200 bar de presión. En estas condiciones se obtuvieron filmes circulares de polímero de 200 µm de espesor. Como muestra referencia se tomó PCL procesada en las mismas condiciones.

En función del contenido y tipo de arcilla, las muestras han sido referenciadas como: PCL para la muestra sin carga, PCL/xMMT-k10, para aquellas con arcilla natural y PCL/xMMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>, para aquellas con arcilla modificada, donde x es el contenido en peso de arcilla, 1, 2, 4, 6 y 10 %.

### 3.2.4 Caracterización térmica de los materiales mediante DSC.

Las propiedades térmicas del copolímero de bloque se estudiaron por DSC en una rampa de temperatura desde -80 °C hasta 200 °C a 10 °C/min.

El grado de cristalinidad fue calculado a partir de la relación de la entalpía de fusión experimental ( $\Delta H_m$ ) y la entalpía de fusión teórica de la matriz de PCL 100% cristalina ( $\Delta H_{100\%} = 136.1 \text{ J/g}$ ).

**Ecuación 3.4**

$$\%Xc = \frac{\Delta H_m}{w_{PLC} \times \Delta H_{100\%}} \times 100\%$$

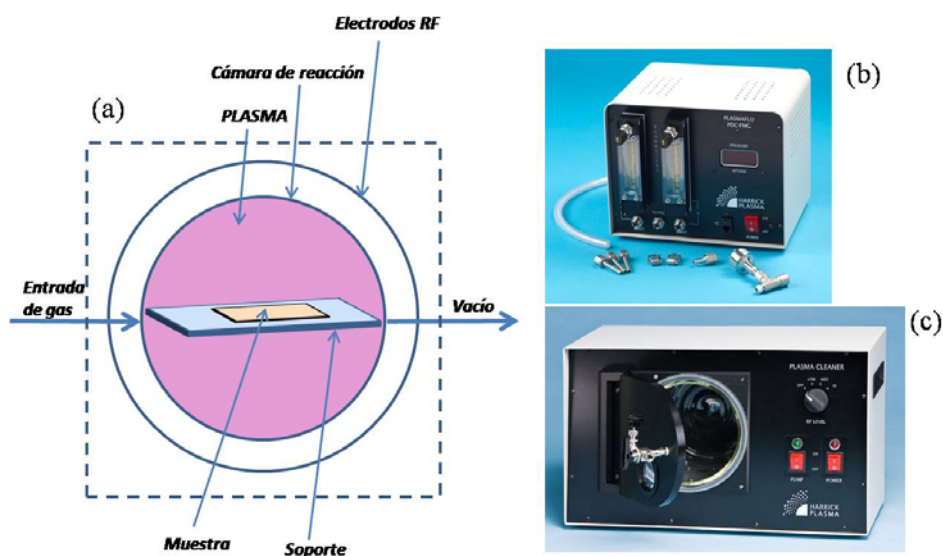
El análisis de las propiedades térmicas de los materiales se llevó a cabo por DSC. Se utilizó un programa de calentamiento con 4 etapas: 1) calentamiento de -100 a 130 °C a



10 °C/min, 2) 5 minutos a 130 °C, 3) enfriamiento de 130 °C a -100 °C a 10 °C/min y 4) calentamiento de -100 hasta 130 °C a 10 °C/min. Los valores de las transiciones térmicas se determinaron en el segundo barrido de calentamiento.

### 3.2.5 Tratamiento con plasma.

Los tratamientos de plasma se llevaron a cabo en un *Plasma Cleaner PDC-002*, *Harrick Plasma* (NY, USA), **Figura 3.6c**, con distintos tiempos de exposición, 100, 500, 1000 y 5000s. La cámara está acoplada a un controlador de flujo de gases (*PlasmaFlo*), **Figura 3.6 b**, y a un medidor de presión. Inicialmente, la cámara de plasma fue evacuada a 60 mTorr, y posteriormente se introdujo un flujo de oxígeno de 0.1 SCFH. Se elevó la presión de oxígeno a 600 mTorr y la potencia aplicada fue de 30 W. Las muestras se situaron horizontalmente en la cámara de plasma.



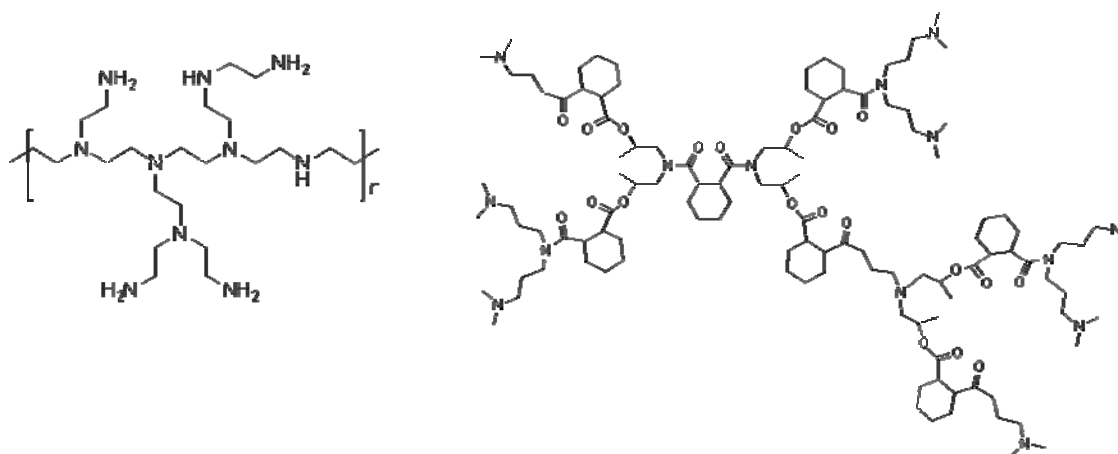
**Figura 3.6.** (a) Esquema de un reactor de plasma, (b) Controlador de flujo de gases, y (c) imagen del reactor de plasma utilizado en este trabajo.

### 3.3 Parte Experimental del Capítulo 5.

#### 3.3.1 Materiales.

##### 3.3.1.1 Polímeros hiperramificados (HBP).

Se han empleado tres polímeros hiperramificados comerciales como surfactantes de la Montmorillonita. Aquellos basados en polietilenimina han sido PEI800 (ethylenediamine end-capped,  $M_w$  800) y PEI25000 (branched,  $M_w$  25000), suministrados por Aldrich. La poliésteramida alifática Hybrane<sup>®</sup> HA1690 fue proporcionada por DSM, The Netherlands.



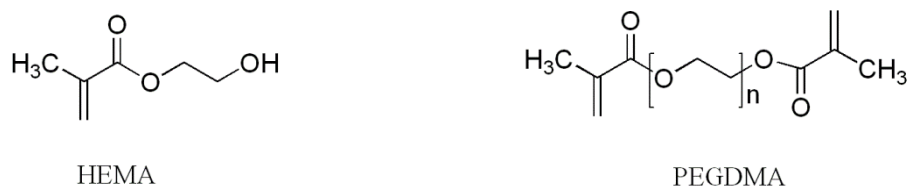
Polietileneimina (PEI)

Hybrane<sup>®</sup> HA1690

**Figura 3.7.** Estructura de los polímeros hiperramificados PEI800 y PEI25000 y HA1690.

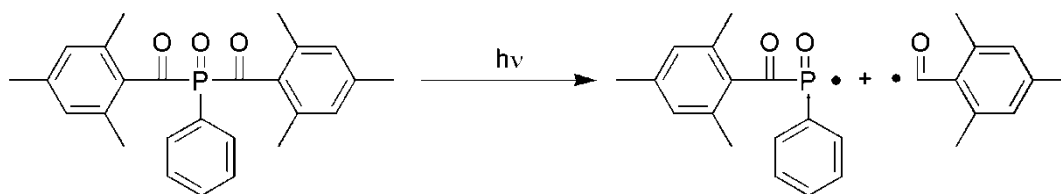
##### 3.3.1.2 Monómeros y fotoiniciador.

Los reactivos usados en las reacciones de fotopolimerización fueron el monómero 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) y el macromonómero entrecruzante poli (etilenglicol) dimetacrilato de peso molecular 550 g/mol (PEGDMA,  $M_w$  550), suministrados por Aldrich.



**Figura 3.8.** Estructura de los monómeros HEMA y PEGDMA.

El fotoiniciador de fragmentación empleado fue óxido de bis (2, 4, 6-trimetilbenzoil)-fenilfosfina (Irgacure<sup>®</sup> 819) suministrado por CIBA Specialty Chemicals. La estructura y la reacción de fotofragmentación para generar radicales iniciadores se muestran en la **Figura 3.9**.



**Figura 3.9.** Fotofragmentación del fotoiniciador Irgacure<sup>®</sup> 819.

### 3.3.2 Preparación de los materiales nanocompuestos.

#### 3.3.2.1 Cuaternización de los polímeros hiperramificados.

Las reacciones de cuaternización de los grupos amino terminales presentes en los HBP se llevaron a cabo como se describe a continuación: 3 g de los HBP se disolvieron en 50 mL de diclorometano y las disoluciones se enfriaron a 0 °C en baño de hielo. 1 g del agente metilante yoduro de metilo (Aldrich) se disolvió en 10 mL diclorometano, se enfrió a 0 °C. A continuación se añadió lentamente a la disolución de los HBP en proporción molar 1:10 respecto al número estimado de aminas terminales presentes en cada uno de los HBP, y la mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Los HBP cuaternizados se obtuvieron en forma de sólido insoluble filtrando el crudo de reacción. Este sólido se lavó repetidas veces con acetona y se secó en el rotavapor a presión reducida. Los HBP cuaternizados fueron nombrados PEI800Q, PEI25000Q y HA1690Q.

### 3.3.2.2 Modificación de la MMT con HPB cuaternizados.

Para obtener MMT monocatiónica, se siguió el protocolo descrito en el apartado **3.2.3.1** de este Capítulo.

Los HBP cuaternizados se disolvieron en acetona (5 mL por cada gramo de HBP) y se añadieron en una proporción 2:1 en la suspensión acuosa de MMT (0.5 g/L). Las mezclas se agitaron durante al menos 8 horas a temperatura ambiente. Las suspensiones se filtraron a presión reducida y los sólidos obtenidos se lavaron con agua desionizada y metanol. Las arcillas organo-modificadas obtenidas se secaron a vacío a 40°C, y se nombraron en función del surfactante empleado: MMT-PEI800, MMT-PEI25000 y MMT-HA1690.

### 3.3.2.3 Preparación de los nanocomposites por fotopolimerización.

Los HBP cuaternizados se añadieron a una mezcla de monómeros HEMA y PEGDMA (al 4% en peso respecto al HEMA) en proporciones de 1, 2 y 3 % en peso, respecto al HEMA. Las formulaciones se sometieron a ultrasonidos hasta la completa dispersión de las arcillas, entonces se añadió el fotoiniciador en 1% respecto al HEMA y se disolvió usando un agitador magnético. Para evitar reacciones de polimerización prematuras todos los viales conteniendo formulaciones se protegieron de la luz ambiental. Las fotopolimerizaciones monitorizadas en el foto-DSC se llevaron a cabo tal y como se describe en el apartado **3.1.3.2** de este Capítulo.

Los muestras utilizadas para TGA, RX, QL y microdureza se fotopolimerizaron mediante irradiación con una lámpara de 365 nm durante 30 minutos y sometidas a un tratamiento de post-curado de 24 horas a 80°C para eliminar el monómero residual.

En función del contenido y tipo de arcilla, las muestras han sido referenciadas como: HEMA4%PEGDMA para la muestra sin carga, HEMA4%PEGDMA x%MMT-PEI800, para los nanocomposites con la arcilla MMT-PEI800, HEMA4%PEGDMA x%MMT-PEI25000 para los nanocomposites con la arcilla MMT-PEI25000, y HEMA4%PEGDMA x%MMT-HA1690 para los nanocomposites con arcilla MMT-HA1690 donde x es el contenido de arcilla en peso respecto al HEMA (1, 2 y 3 %).

### **3.4 Parte Experimental del Capítulo 6.**

#### **3.4.1 Materiales**

El ácido oleico, el acetilacetonato de hierro (III), el dibenzil éter, la difenilcarbazida y las polietileniminas PEI800 y PEI25000 fueron suministrados por Aldrich. La MMT monocatiónica se describe en el apartado **3.2.3.1** de este capítulo.

#### **3.4.2 Magnetización.**

La dependencia de campo de la magnetización para las partículas fue medida utilizando un magnetómetro cuántico superconductor (*SQUID*, *Quantum Design*, *MPMS-XL*) operando a 300 K. Para los experimentos se utilizó una masa de entre 10 y 20 mg.

#### **3.4.3 Procedimientos experimentales.**

##### 3.4.3.1 Síntesis de las nanopartículas magnéticas.

Las nanopartículas magnéticas fueron preparadas siguiendo el método descrito en la bibliografía.<sup>105</sup> Para esta síntesis, 0.71 g de acetilacetonato de hierro (III) se adicionó a una mezcla de ácido oleico (1.13 g) y benzil éter (15.02 g). La mezcla de reacción se degasificó a temperatura ambiente durante una hora y después fue calentada a 290 °C a una velocidad de 14 °C/min bajo agitación magnética intensa. La mezcla de reacción se mantuvo a esta temperatura durante 30 minutos. Después de enfriarla a temperatura ambiente, se incorporó una mezcla de tolueno y hexano (1:1) a la mezcla de reacción. La disolución se centrifugó para hacer precipitar las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . El precipitado se lavó con cloroformo.

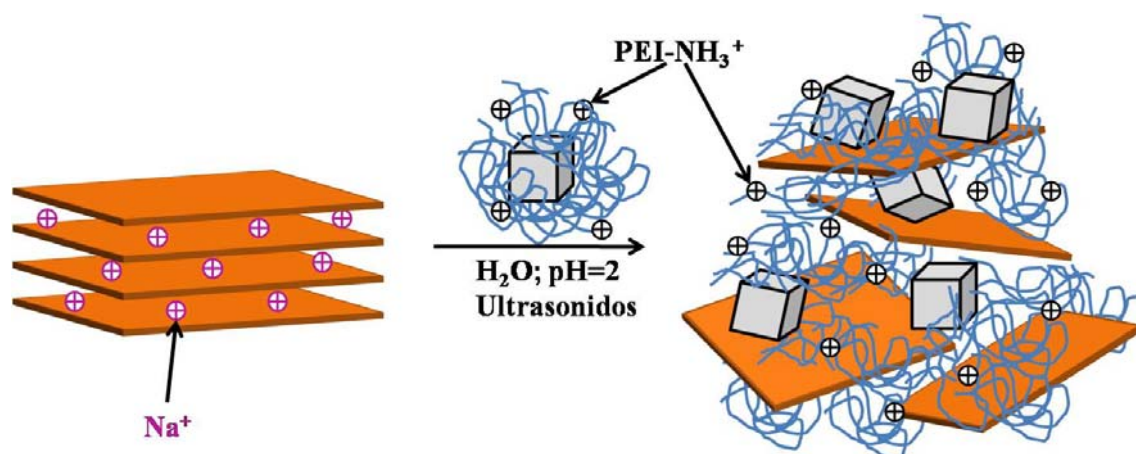
##### 3.4.3.2 Síntesis de nanopartículas magnéticas recubiertas con PEI.

Las nanopartículas magnéticas fueron recubiertas con las dos polietileniminas hiperramificadas (PEI800 y PEI25000) y nombradas como PEI800-Magnetita y PEI25000-Magnetita, respectivamente. Se prepararon en forma de suspensiones de

acuerdo al procedimiento descrito en la bibliografía,<sup>106</sup> mezclando 20 mg de las nanopartículas magnéticas con 20 mg/mL de PEI en agua Millipore. La suspensión se sumergió en un baño de ultrasonidos durante 30 minutos y se sometió a agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. A continuación, la PEI que no hubo reaccionado se separó mediante cinco lavados consecutivos con agua Millipore. Las nanopartículas recubiertas se redispersaron en agua Millipore y se sonicaron durante 2 minutos. Con objeto de cuaternizar las aminos situadas en las PEI para poder llevar a cabo las reacciones de intercambio catiónico con los cationes metálicos presentes en la montmorillonita, se añadió una disolución 0.1 M de HCl a la suspensión de las nanopartículas magnéticas recubiertas de PEI, ajustando el pH a 2, valor en el cual las aminos se encuentran cuaternizados.

#### 3.4.3.3 Preparación de los materiales híbridos MMT-PEI-Magnetita.

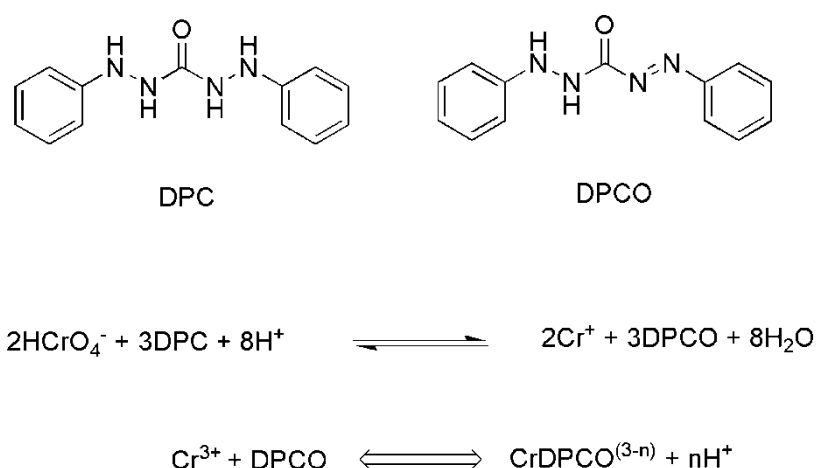
Una suspensión a pH 2 de las nanopartículas recubiertas de, PEI800 o PEI25000 fue añadida a 1 L de suspensión acuosa (pH 2) de láminas de MMT (0.5 g/L). La mezcla se sonicó durante una hora y se dejó agitando una noche. A los materiales híbridos obtenidos se les denomina MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita. En la **Figura 3.10** se muestra una representación esquemática de la preparación de los materiales híbridos.



**Figura 3.10.** Representación esquemática de la preparación de los materiales híbridos.

### 3.4.3.4 Experimentos de adsorción de Cromo.

Una cantidad de 20 mg de los materiales híbridos preparados en el apartado **3.4.3.3** se añadió a un vial con 5 mL de disolución de Cr (VI). Las disoluciones de Cr (VI) se prepararon disolviendo  $K_2CrO_4$  en agua destilada con el pH deseado. El valor de pH se ajustó con disoluciones de HCl (0.1 M) y NaOH (0.1M). La mezcla en el vial se agitó enérgicamente sobre un plato oscilante para alcanzar una mezcla completa durante 120 minutos. Para separar el adsorbente magnético de la disolución, se situó el vial sobre un imán, permitiendo que todo el adsorbente se depositase en el fondo del recipiente, después se separaron ambas fases por decantación, reservando la fase acuosa para el análisis de cromo mediante espectroscopía UV. Para el análisis se añade una cantidad fija de una disolución de difenilcarbazida (20 g/L) en acetona, con el objetivo de generar un complejo de cromo, **Figura 3.11**, que presenta absorción en la zona UV. Para todos los experimentos se añadieron 0.2 mL de esta disolución en 2 mL de la disolución de Cr (VI).<sup>107-108</sup>



**Figura 3.11.** Reacción de reducción del Cr (VI) a Cr (III) y posterior complejación.

Todos los experimentos de adsorción fueron realizados a temperatura ambiente y los resultados fueron corregidos con una línea base realizada a partir de experimentos en los que no se había añadido adsorbente en la disolución de Cr (VI). La cantidad de Cr (VI) adsorbida por unidad de masa del adsorbente,  $q$  (mg/g), fue calculada utilizando la siguiente expresión:

**Ecuación 3.5**  $q = (C_0 - C_t)/m$

Donde  $C_0$  y  $C_t$  (mg/L) son la concentración de Cr (VI) en la disolución de reacción antes y después del tratamiento, respectivamente y  $m$  (g) es la cantidad de adsorbente en 1 L de Cr (VI). La eficiencia de adsorción de Cr (VI),  $E$  % fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

**Ecuación 3.6** 
$$E = \left[ \frac{C_0 - C_t}{C_0} \right] \times 100\%$$

El estudio de la dependencia de la adsorción de Cr (VI) con el pH en la muestra MMT-PEI800-Magnetita se realizó en disoluciones de Cr (VI) de 5 mL de volumen con concentraciones iniciales de 10 y 60 mg/L a temperatura ambiente. El valor de pH se ajustó con disoluciones 1 M de NaOH o HCl.

### 3.5 Parte Experimental del Capítulo 7.

#### 3.5.1 Materiales.

El alcohol polivinílico (PVA,  $M_w=89000-98000$  g/mol, 99% hidrolizado) y el citrato de sodio (CS) fueron suministrados por Aldrich. El nitrato de plata ( $AgNO_3$ , ACS-ISO para análisis) fue suministrado por Panreac. El polidimetil siloxano (PDMS) Sylgard 184 fue suministrado por Dow Corning (MI, EEUU). Las obleas de silicio (“Si wafers”, orientación 100) fueron adquiridas a Crystec (Berlín, Alemania). El “photoresist” empleado fue SU-8 50 y lo suministró Micro Resist Technology (Berlín, Alemania).

#### 3.5.2 Equipos.

El proceso de litografía se llevó a cabo en sala blanca. Para la etapa de iluminación se emplea un alineador de las máscaras con las obleas de silicio, en este caso un Mask-aligner MJB 3 UV 400 de la casa *Süss MicroTec Lithography* (Garching, Alemania) que posee una fuente de irradiación de mercurio (280-450 nm, 200 W).



### 3.5.3 Procedimientos experimentales.

#### 3.5.3.1 Preparación de las estructuras mediante litografía.

Con objeto de limpiar las obleas de silicio, éstas fueron sumergidas en una disolución de  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  (5:1) durante al menos 24 horas, después se lavaron con agua desionizada y fueron secadas con un flujo de aire. Seguidamente, y previo al proceso de litografía, las obleas se llevaron a la sala blanca donde se limpiaron nuevamente con acetona y se secaron con un flujo de nitrógeno. El procedimiento seguido para llevar a cabo el proceso de litografía ha sido descrito previamente,<sup>109</sup> y consiste en varias etapas, esquematizadas en la **Figura 3.12**.

1. Deposición del “photoresist” en la superficie de la oblea de silicio y “spin coating”. La velocidad de giro se selecciona dependiendo de la profundidad de los surcos que se vayan a preparar. En nuestro caso, los programas de giro fueron: 5 segundos a 500 rpm seguido de 60 segundos a 970 rpm o 1710 rpm para los espesores de 10  $\mu\text{m}$  y 50  $\mu\text{m}$  respectivamente.

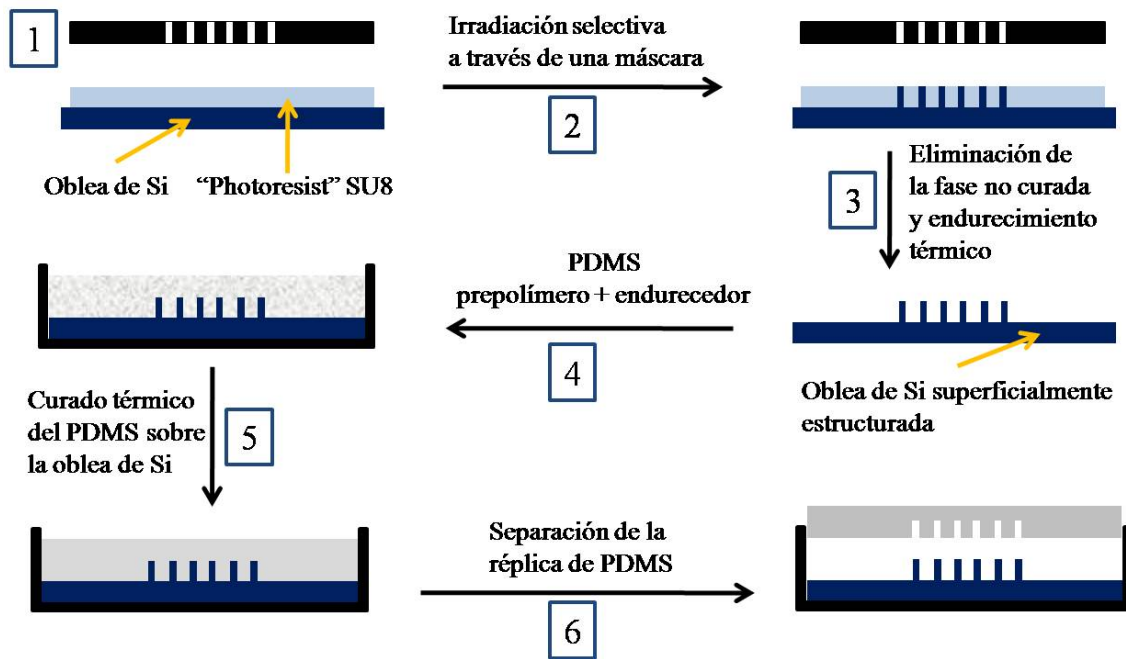
Calentamiento suave previo a la irradiación, 2 minutos a 65°C seguido de 5 minutos a 95°C para los de 10  $\mu\text{m}$ , y 6 minutos a 65°C seguido de 20 minutos a 95°C para los de 50  $\mu\text{m}$ .

2. Irradiación UV o tiempo de exposición de 13.5 segundos para los de 10  $\mu\text{m}$  y 40 segundos para los de 50  $\mu\text{m}$ .

Calentamiento posterior a la exposición: 1 minuto a 65°C seguido de 2 a 95°C para los de 10  $\mu\text{m}$  y 1 y 5 minutos a las mismas temperaturas para los de 50  $\mu\text{m}$ .

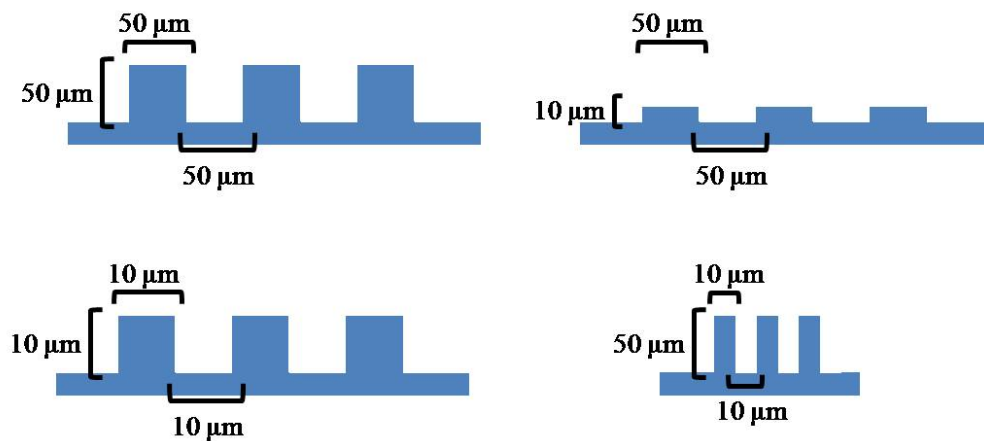
3. Desarrollo de la oblea o eliminación de la fase no curada por disolución: 2 y 6 minutos respectivamente.

Calentamiento a 150°C durante 30 minutos.



**Figura 3.12.** Etapas de preparación de los patrones superficiales por litografía y posteriormente la preparación de los moldes de PDMS.

Las dimensiones de los surcos presentes en la superficie de las láminas de silicio están esquematizadas en la **Figura 3.13**.



**Figura 3.13.** Esquemas idealizados de las cuatro estructuras preparadas.

Los moldes de PDMS se prepararon de la siguiente manera:

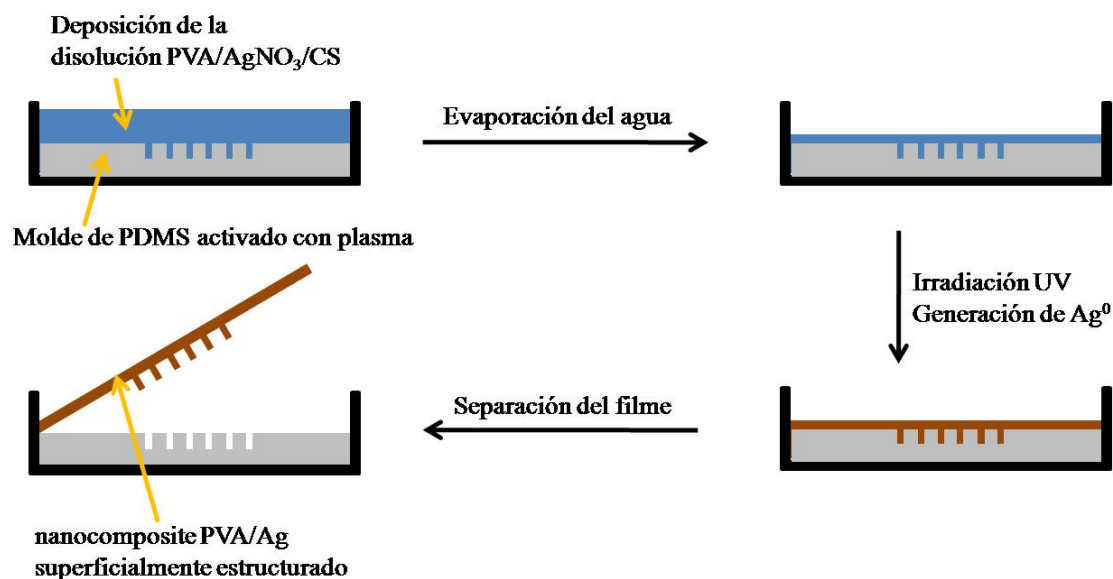
4. Una proporción de prepolímero *Sylgard 184* parte A y entrecruzante parte B se mezclaron en una proporción 10:1 y desgasificaron hasta la ausencia total de burbujas. Después esta mezcla se vertió sobre las obleas de silicio y se volvieron a desgasificar.
5. El proceso de curado térmico se llevó a cabo a 60°C durante 18 horas.
6. Posteriormente se procedió al desmoldeo de los filmes de PDMS de las obleas de silicio.

#### 3.5.3.2 Síntesis de los materiales nanocompuestos PVA/Ag.

El PVA se disolvió en agua desionizada a 80°C en una proporción de 20 g/L con agitación constante. Una vez que la disolución quedó completamente transparente, se dejó enfriar a temperatura ambiente. A esta disolución se añadieron el AgNO<sub>3</sub> y el citrato sódico en proporciones de 1 % en peso con respecto al PVA.

La disolución se vertió sobre el molde de PDMS con la estructura deseada. Previamente, el filme de PDMS había sido tratado con plasma de oxígeno a una presión de 600 mTorr y una potencia de 30 W durante 5 minutos con objeto de aumentar la humectabilidad del PDMS y favorecer el llenado de todos los surcos con la disolución acuosa. Los filmes de PVA preparados sin estructuración superficial se realizaron de forma análoga sobre un filme de PDMS plano previamente tratado con plasma, en las mismas condiciones.

A continuación se dejó evaporar el agua de la disolución, previniendo el material de la exposición a la luz, obteniendo un filme transparente. Una vez que toda el agua se hubo evaporado, se sometió el filme a irradiación UV con una lámpara *Mercury Osram HQL 250W* a una longitud de onda de 365 nm, a una distancia de 5 cm, y los filmes transparentes adquirieron un color marrón, como consecuencia de la formación de las nanopartículas de plata, **Figura 3.14**. Las muestras de referencia se prepararon a partir de la disolución del PVA siguiendo el mismo método descrito.



**Figura 3.14.** Etapas de la preparación de los nanocompuestos PVA/1%Ag con la superficie microestructurada.

### 3.5.3.3 Caracterización térmica de los materiales.

El estudio del comportamiento térmico de los materiales se llevó a cabo mediante DSC, y el programa de temperatura que se utilizó fue el siguiente: 1) calentamiento de 25 °C a 250 °C a una velocidad de 10 °C/min, 2) 5 minutos a 250 °C, 3) enfriamiento de 250 °C a 25 °C a 10 °C /min y 4) calentamiento de 25 °C a 250 °C a una velocidad de 10 °C/min, en el que se analizan las propiedades térmicas del material.

El grado de cristalinidad fue calculado a partir de la relación de la entalpía de fusión experimental ( $\Delta H_m$ ) y la entalpía de fusión teórica de la matriz 100% cristalina ( $\Delta H_{100\%} = 168 \text{ J/g}$ ).<sup>110</sup>



## **CAPÍTULO 4**



**MATERIALES NANOCOMPUESTOS PCL/ MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>****PARTE I****PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.****4.I.1 Introducción.****4.I.1.1 Poli ( $\epsilon$ -caprolactona).**

La poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL)<sup>111</sup> es un poliéster lineal alifático, semicristalino e hidrofóbico, que debido a su naturaleza biocompatible, biodegradable y a su velocidad de degradación lenta, resulta adecuado para implantes de larga duración y aplicaciones de liberación controlada.<sup>112-113</sup>

Este polímero fue uno de los primeros polímeros sintetizados por el grupo de Carothers en la década de 1930.<sup>114</sup> La PCL ha sido ampliamente utilizada para la fabricación de soportes para ingeniería de tejidos,<sup>115-116</sup> sistemas de liberación de fármacos en forma de micro y nanoesferas<sup>117</sup> y dispositivos biomédicos tales como suturas, recubrimiento de heridas y dispositivos anticonceptivos y sistemas de fijación.<sup>113</sup>

Entre los productos comerciales fabricados con PCL cabe destacar un copolímero de PCL con ácido poliglicólico, que ofrece menor rigidez que el ácido poliglicólico puro, con el que se prepara un monofilamento para suturas, comercializado por la casa Ethicon, Inc (Somerville, New Jersey), con el nombre de Monacryl®.<sup>118</sup>

Debido a su baja temperatura de transición vítrea, facilidad de procesado y miscibilidad con otros polímeros y relativamente buenas propiedades mecánicas, la PCL ha sido utilizada como matriz para materiales compuestos y nanocompuestos con una gran variedad de cargas, tales como nanotubos de carbono,<sup>119</sup> óxido de grafito<sup>120</sup> y silicatos laminares.<sup>13, 21, 121</sup>

La PCL puede ser biodegradada por organismos vivos al aire libre, tales como bacterias y hongos, pero no puede ser biodegradada en cuerpos animales o humanos debido a la falta de las enzimas apropiadas.<sup>122</sup> Este polímero puede ser clasificado como bioreabsorbible, esto significa que tiene lugar la degradación y posterior reabsorción del



polímero *in vivo*. Este tipo de polímeros son eliminados mediante rutas naturales como el simple filtrado de los productos secundarios de degradación o después de su metabolización. Este concepto implica eliminación total del material externo inicial y de los productos de degradación, sin efectos secundarios.

Existen dos métodos para preparar PCL: policondensación del ácido 6-hidroxihexanoico y polimerización por apertura de anillo (ROP) del monómero  $\epsilon$ -caprolactona ( $\epsilon$ -CL). Dentro de las reacciones de apertura de anillo hay varios tipos, dependiendo del catalizador que se emplee: catiónica, aniónica o por coordinación-inserción.

Existen otros poliésteres alifáticos como por ejemplo el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico (PLA), y sus copolímeros, que se emplean como matrices poliméricas en ingeniería de tejidos, fabricación de dispositivos biomédicos e implantes.<sup>111, 119</sup> Estos polímeros se degradan mediante la hidrólisis de los enlaces tipo éster. El PGA es uno de los polímeros más ampliamente utilizado para la fabricación de andamiajes (scaffolds) debido a su relativa naturaleza hidrofílica, rápida degradación *in vivo* o en disolución y pérdida de integridad mecánica en un periodo de entre dos y cuatro semanas. El PLA se ha empleado también en la fabricación de andamiajes. El grupo metílico que posee, comparado con el PGA, lo hace más hidrofóbico, reduce su afinidad por el agua y por tanto su velocidad de hidrólisis. Un implante hecho con este polímero puede mantener su integridad mecánica en un periodo de meses o incluso años.<sup>123</sup> El polihidroxibutirato (PHB)<sup>124</sup> es otro poliéster alifático que puede ser producido por microorganismos *vía* fermentación y cuyas aplicaciones están más limitadas debido a su alto carácter hidrofóbico y velocidad de degradación muy lenta.

La principal ventaja de la PCL frente a los polímeros citados, son sus propiedades reológicas y viscoelásticas claramente superiores, lo que hace que sea un polímero mucho más fácil de procesar y manipular. Además, aunque su velocidad de degradación es lenta, es un polímero adecuado para la fabricación de implantes y dispositivos biomédicos de liberación controlada en aplicaciones a largo plazo.

#### **4.I.1.2 Materiales nanocompuestos de PCL/MMT.**

Existen numerosos antecedentes de síntesis, caracterización y aplicaciones de nanocomposites con matriz de PCL y nanopartículas de silicatos laminares. Se puede

hacer una clasificación atendiendo a la forma de preparación de los mismos: polimerización-intercalación *in situ*,<sup>125-126</sup> en disolución<sup>112, 121, 127</sup> y por mezclado en fundido.<sup>13-14, 25, 76, 121, 128-132</sup> Ésta última es probablemente la más extendida, ya que como se ha comentado, las propiedades térmicas y reológicas de la PCL hacen de éste un polímero fácilmente procesable.

Los principales objetivos al incorporar nanopartículas de arcilla en una matriz polimérica como PCL son mejorar sus propiedades mecánicas y térmicas. En la gran mayoría de los ejemplos de materiales nanocompuestos de PCL con silicatos laminares descritos en la literatura, la MMT empleada es de tipo Cloisite® previamente modificada con sales de amonio cuaternario. Lepoittevin y colaboradores<sup>25</sup> prepararon nanocomposites con tres tipos de arcillas, una natural hidrofílica y dos comerciales, hidrofóbicas, en distintas concentraciones, por mezclado en fundido. Las propiedades mecánicas de aquellos materiales con nanoarcillas modificadas eran superiores a la matriz sin carga y a las de los materiales con arcilla natural. La estabilidad térmica de las muestras con organo-arcilla mejoraba con respecto a la PCL, sin embargo, el perfil de descomposición termo-oxidativa no se ajustaba a una relación con la concentración de arcilla.

Chen y Evans<sup>13</sup> publicaron un riguroso trabajo en el que prepararon nanocomposites de PCL con una arcilla natural y dos modificadas comerciales, por mezclado en fundido. A bajos valores de carga la morfología dominante era la exfoliación, y las láminas de arcilla ejercían como agentes nucleantes, aumentando el grado de cristalinidad de la PCL. Sin embargo, a altas concentraciones la morfología dominante era la intercalación, atribuido a que la fracción de polímero que se encontraba entre las láminas estaba en estado amorfo y contribuía a un descenso de la cristalinidad de la matriz. Se calculó el volumen de arcilla eficiente y se utilizó para analizar los valores del módulo de Young obtenidos experimentalmente, observando que se ajustaban al comportamiento de composites convencionales, predecible teóricamente.

Cabe destacar, como algunos de los estudios más recientes en el área, los trabajos de Campbell y colaboradores, que han investigado la incorporación de medicamentos como el ibuprofeno<sup>133</sup> y paracetamol<sup>134</sup> en materiales nanocompuestos de PCL y silicatos laminares, en concreto MMT tipo Cloisite® y una fluoromica sintética. En estos trabajos se mezclaron la PCL, los silicatos y el ibuprofeno en una extrusora,

manteniendo fija la concentración de los medicamentos con respecto a la PCL (5% en peso) y variando la concentración de carga inorgánica. Para todos los materiales estudiados se encontró una morfología de intercalación/exfoliación, sin embargo aquellas muestras cargadas con MMT presentaban valores de módulo de Young más bajos y grados de cristalinidad más altos que aquellos materiales con la arcilla sintética. Se estudió la liberación de los fármacos *in vitro*, observando que la presencia de silicatos laminares retarda la liberación de los fármacos, respecto a la matriz sin arcilla.

#### **4.I.1.4 Polimerización radical controlada por transferencia de átomo, ATRP.**

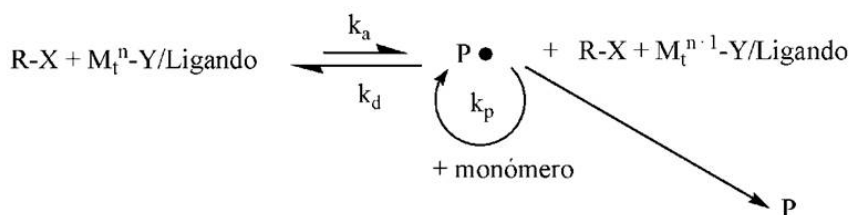
La polimerización radical controlada/“viva”<sup>135</sup> (CRP) se introdujo como un método sencillo y ventajoso para la obtención de materiales poliméricos con estructura controlada, tal como distribución específica de unidades y segmentos monoméricos, peso molecular determinado y polidispersidad estrecha, con el fin de inducir en el sistema un mejor comportamiento fisicoquímico para una aplicación determinada. El uso de la polimerización radical controlada para la preparación de una amplia variedad de polímeros, desde simples homopolímeros hasta estructuras altamente complejas, se ilustra ampliamente con ejemplos de materiales<sup>136-138</sup> que exhiben estructuras/propiedades especialmente apropiadas para aplicaciones específicas, como puedan ser alta estabilidad térmica o biocompatibilidad.

En la polimerización “viva” no existen procesos de terminación ni de transferencia, de manera que las cadenas crecen a la misma velocidad y, por tanto, el peso molecular viene determinado por la razón entre las concentraciones de monómero e iniciador empleadas. Esto conduce a una polidispersidad pequeña, cercana a la unidad. Hay que decir, sin embargo, que la polimerización radical “viva” sólo tiene lugar en condiciones ideales; en los procesos reales se dan reacciones de terminación y transferencia que, no obstante, hay que tratar de minimizar si se quieren conservar las ventajas que inicialmente presentan las reacciones “vivas”. Para ello se necesita mantener una baja concentración de radicales en crecimiento. El procedimiento para conseguirlo es hacer que las especies “activas” pasen a ser “latentes” de una manera rápida y reversible, de forma que todas las cadenas crezcan a la misma velocidad. El establecimiento de una dinámica de equilibrio entre los radicales en propagación y las especies “latentes” es común a todos los sistemas CRP.<sup>139-140</sup> Esta interconversión significa la práctica

eliminación de procesos de terminación o transferencia, pudiéndose obtener así pesos moleculares altos y polidispersidades bajas, próximas a la unidad. Esta metodología se ha denominado genéricamente como polimerización radical “viva” controlada.

Dependiendo del mecanismo seguido para alcanzar este intercambio rápido entre especies “activas” y “latentes”, se distinguen tres variantes específicas: polimerización radical controlada mediante radicales estables (SFRP), polimerización radical viva mediante transferencia de átomo<sup>141</sup> (ATRP) y polimerización radical viva mediante transferencia de cadena reversible *vía* adición-fragmentación (RAFT).

El mecanismo general de la polimerización ATRP se encuentra representado en la **Figura 4.1** e implica especies “latentes” terminadas por átomos de halógenos. Los catalizadores empleados en ATRP consisten en complejos metálicos formados por un metal de transición ( $M_t^n-Y$ ), un ligando complejante (L), y un contraión que puede formar un enlace iónico o covalente con el centro metálico. El complejo del metal de transición es responsable de la disociación homolítica del enlace del haluro de alquilo o especie “latente” (R-X) dando lugar a la formación del complejo metálico con el haluro ( $X-M_t^{n+1}-Y/L$ ) en su forma oxidada y de un radical orgánico, o especie activa  $R\cdot$ .<sup>142-143</sup> Este proceso tiene lugar con una constante de velocidad de activación,  $k_a$ , y de desactivación,  $k_d$ . Las cadenas de polímero crecen por la adición de radicales intermedios al monómero de forma similar a la polimerización radical convencional, con la constante de velocidad de propagación,  $k_p$ . Las reacciones de terminación ( $k_t$ ) también ocurren en ATRP, principalmente, a través de acoplamiento radical o desproporción; sin embargo, en una reacción por ATRP bien controlada, sólo un pequeño porcentaje de las cadenas de polímero experimentan terminación. Además, existen otras reacciones secundarias que podrían limitar el alcanzar los pesos moleculares deseados.<sup>144</sup> Normalmente, no más del 5% del total de las cadenas de polímero en crecimiento terminan durante la etapa inicial, corta, no estacionaria, de la polimerización. Este proceso genera complejos oxidados,  $X-M_t^{n+1}-Y/L$ , como los radicales persistentes para reducir la concentración estacionaria de radicales en crecimiento y de ese modo minimizar la contribución de la terminación<sup>145</sup>. El éxito de la ATRP reside en que no sólo habrá una pequeña contribución de cadenas terminadas, sino también un crecimiento uniforme de todas las cadenas, lo cual se lleva a cabo a través de una rápida iniciación y una desactivación reversible inmediata.



**Iniciador:** R-X (haluro de alquilo).

**Sistema catalizador:**  $M_t^n$ -Y (haluro de metal de transición)/Ligando complejante.

**Constantes de equilibrio:**  $k_a$  (activación),  $k_d$  (desactivación),  $k_p$  (propagación),  $k_t$  (terminación).

**Figura 4.1.** Mecanismo general de la Polimerización Radical controlada por Transferencia de Átomo, ATRP.

Los sistemas de iniciación de las polimerizaciones radicales ATRP consisten en un catalizador (complejo de un metal de transición con un ligando apropiado) y un iniciador con un halógeno transferible. El primero permite la generación de especies radicales a partir del segundo o del macrorradical con actividad “latente”. La elección de los metales y los iniciadores según las estructuras de los monómeros es crucial para controlar las polimerizaciones radicales. La velocidad y el control de la polimerización también se puede mejorar por la adición de otros compuestos o cambiando el disolvente.

#### 4.1.1.5 Modificación de MMT con copolímeros de bloque.

La modificación de silicatos laminares con surfactantes de tipo copolímeros de bloque, ha sido previamente llevada a cabo y se pueden encontrar ejemplos de ello en la literatura.<sup>47-55, 57-60, 146</sup>

Una de las principales metodologías, llevada a cabo por los grupos de Zhao-Yang<sup>53, 56-58</sup> y Behling,<sup>48-49</sup> consiste en intercambiar los cationes de sodio presentes entre las láminas de los silicatos, por moléculas que contienen un átomo de nitrógeno cuaternizado con tal fin y además una unidad de haluro de alquilo, de tal forma que son capaces de iniciar reacciones de tipo ATRP. De esta forma, se puede hacer crecer homopolímeros o copolímeros de bloque, injertados en la superficie de láminas de arcilla.

En los trabajos de Zhang<sup>54</sup> y Yang,<sup>55, 60</sup> además se ha estudiado la aplicación de los sistemas lámina de arcilla/copolímero anfífilico como surfactantes para reacciones de polimerización de PS y PMMA en emulsión, demostrando que estos sistemas pueden ser utilizados como estabilizantes en este tipo de reacciones en suspensión.

En los artículos previamente citados, se describe la preparación y caracterización morfológica de nanocomposites de MMT con copolímeros de bloque entre sus láminas. La incorporación de este tipo de arcillas en matrices poliméricas, y el estudio de las propiedades interfaciales que los modificadores del tipo copolímeros de bloque aportan al nanocomposite son todavía un interesante reto que necesita ser explorado.

En el presente trabajo se ha preparado un copolímero de bloque de tipo ABA *vía* polimerización radical por transferencia de átomo (ATRP), en el cual A es poli metacrilato de 2-(dietilaminoetilo) (PDEAEMA) donde las aminas terciarias fueron cuaternizadas con dos fines, el primero facilitar su intercambio por los cationes metálicos presentes en los espacios interlaminares de la arcilla, y el segundo, aportar la actividad antibacteriana a los materiales en los que se incorpora la arcilla. En este polímero, B representa el bloque de macroiniciador de PCL cuya función es la de compatibilizar la arcilla con la matriz de PCL en la que se incorporó la arcilla organomodificada.

Además, en este copolímero se ha incorporado un monómero fluorescente derivado del 7-nitro-benz-2-oxa-1,3-diazol con un grupo acrílico (NBD-Acr), de tal forma que la emisión de fluorescencia de la sonda permita estudiar tanto la dispersión de la carga en la matriz polimérica como las propiedades y procesos dinámicos de los nanocomposites.

#### **4.1.2 Resultados y discusión.**

En este Capítulo se ha sintetizado el copolímero de bloque fluorescente PCL-b-PDEAEMA-NBD por ATRP y ha sido utilizado como surfactante macromolecular para la modificación de montmorillonita (MMT-k10). La arcilla organomodificada, MMT<sub>PCL-PDEAEMA-NBD</sub>, ha sido incorporada a distintas concentraciones en una matriz de PCL para la preparación de materiales nanocompuestos mediante extrusión. De manera análoga se prepararon materiales compuestos de PCL y montmorillonita sin modificar

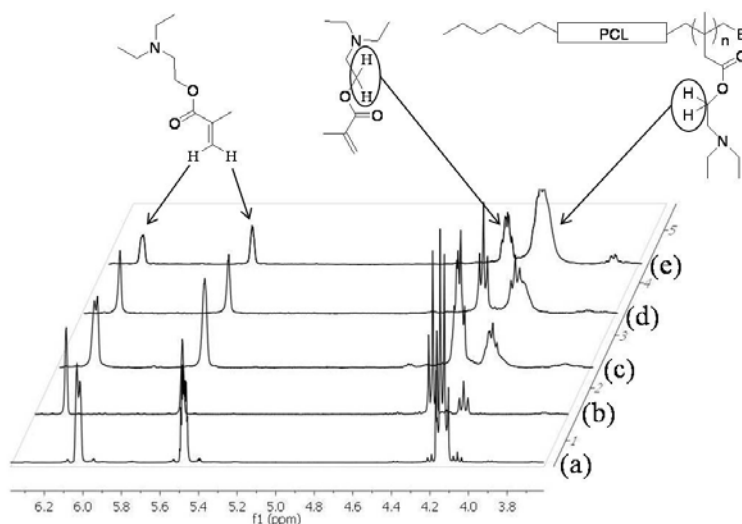
para estudiar el efecto que la modificación orgánica tiene sobre la morfología y las propiedades de los materiales. El procedimiento se detalla en el apartado **3.2** de la **Parte Experimental**.

#### 4.I.2.1 Síntesis y caracterización del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD.

##### 4.I.2.1.1 Síntesis del copolímero de bloque.

El copolímero de bloque se sintetizó *vía* ATRP a partir del macroiniciador de PCL (**P1**), el monómero metacrilato de 2-(dietilaminoetilo) (**P3**) y el monómero fluorescente N-(2-acriloxietil)-N-metilamino-NBD (**P4**). Durante la polimerización se han tomado muestras periódicamente para su análisis por  $^1\text{H}$ -RMN al objeto de determinar los valores de conversión.

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN se identifican las señales correspondientes al monómero y las del copolímero, a partir de las cuales se puede determinar la conversión y seguir la cinética de reacción. En la **Figura 4.2** se representa la evolución del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN con la conversión. A partir de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del copolímero se determina su masa molecular final, 14000 g/mol.



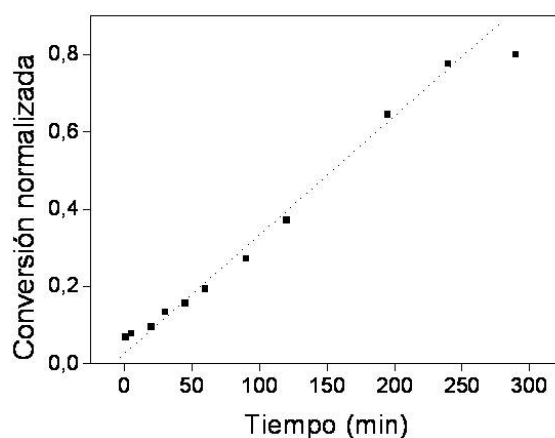
**Figura 4.2.** Espectro del monómero DEAEMA (a) y evolución del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN con la conversión para la polimerización del metacrilato de 2-(dietilaminoetilo) utilizando PCL como macroiniciador a conversiones 8% (b), 13% (c), 37% (d) y 76% (e).

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN confirma la incorporación progresiva del DEAEMA en el copolímero con el tiempo de reacción. Los cálculos se realizaron por comparación de la integración relativa de las señales correspondientes a los hidrógenos del doble enlace de  $\text{CH}_2=\text{CH}-(\text{CH}_3)-\text{CO}$  del monómero DEAEMA a 5.6 y 6.2 ppm y de la señal del polímero PDEAEMA de  $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$  a 4.14 ppm. La señal a 4.14 ppm también integra señales correspondientes al macroiniciador PCL (m,  $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCO}$ ). Por tanto la conversión calculada a partir de  $^1\text{H}$ -RMN ha sido ligeramente superior a la obtenida en la polimerización. El polímero se integra como 1.0 y las integrales del monómero van disminuyendo con respecto a la integral del polímero a medida que aumenta la conversión de reacción. Se considera que la suma total del valor de las integrales es el 100 % de conversión, de esta forma la ecuación utilizada para el cálculo de la conversión fue:

#### Ecuación 4.1

$$\% \text{Conversión} = \left[ \frac{1}{\text{Valor integral polímero} + \text{Valores integrales monómero}} \right] \times 100$$

En la **Figura 4.3** se encuentra representada la cinética de primer orden del copolímero tribloque. Estas representaciones son lineales hasta conversiones altas, indicando que las concentraciones de especies activas fueron constantes durante el transcurso de la polimerización y las reacciones de terminación no ocurren. Esto confirma que el DEAEMA se incorpora de forma controlada al macroiniciador según va aumentando el tiempo de reacción.



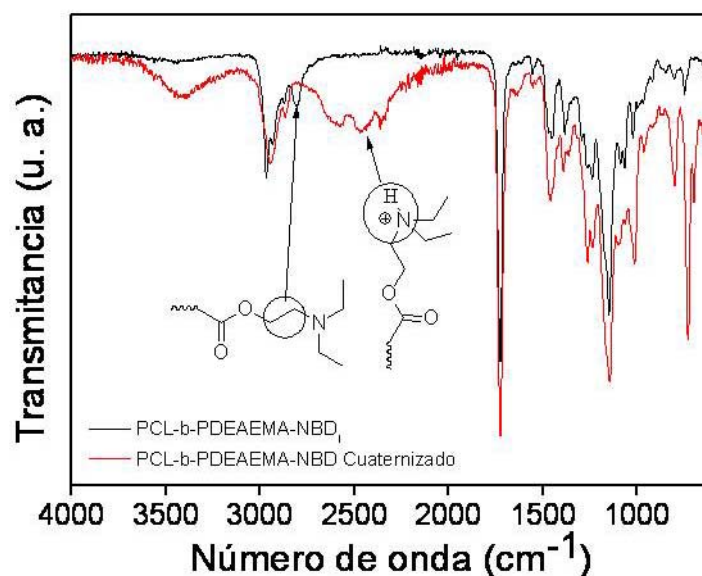
**Figura 4.3.** Representación de la cinética de primer orden de la polimerización radical viva del metacrilato de 2-(dietilaminoetilo).



La representación lineal de la cinética de primer orden sugiere que no se producen reacciones de terminación. El hecho de que la recta no pase por el origen se debe únicamente a que la conversión se ha sobreestimado a partir de los datos de  $^1\text{H}$ -RMN.

Como se describe en el apartado 3.2.2.2 de la **Parte Experimental**, el contenido de sonda fluorescente en el copolímero de bloque fue determinado por espectroscopía de absorción UV, obteniéndose un valor de concentración de 1.7 % en peso de sonda en el copolímero.

Una vez sintetizado el copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD<sub>i</sub> se ha llevado a cabo la cuaternización del bloque (PDEAEMA) que permite el intercambio catiónico en la arcilla. El proceso de protonación con HCl se ha analizado por FTIR, **Figura 4.4**.



**Figura 4.4.** Espectros de FTIR del copolímero de bloque inicial y cuaternizado.

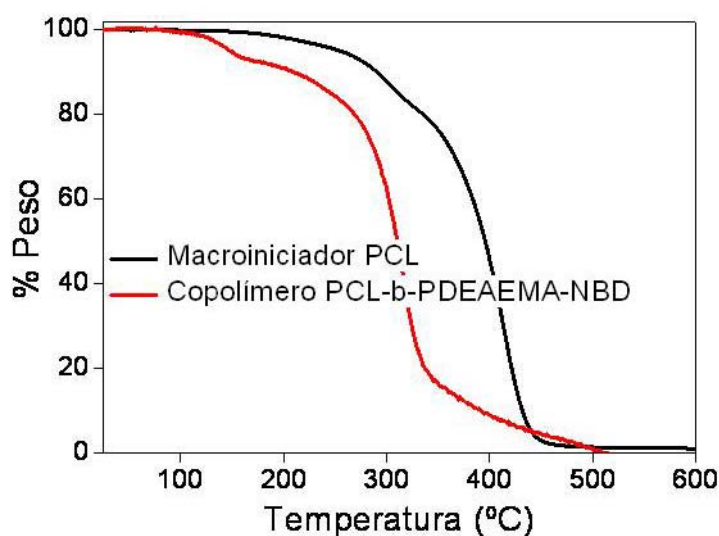
El copolímero de bloque presenta una señal característica a  $2807\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a los grupos  $-\text{CH}_2-$  próximos al átomo de nitrógeno. En cambio, el copolímero de bloque con los átomos de nitrógeno cuaternizados presenta una banda ancha de absorción entre  $2745$  y  $2316\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la tensión del grupo  $^+\text{NHEt}_2-$  del grupo amonio cuaternario. Esta banda se distingue de las vibraciones del enlace C-H que aparecen entre  $3030$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$ .

#### 4.I.2.1.2 Caracterización térmica del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NDB.

El análisis de las etapas de pérdida de peso del copolímero de bloque se llevó a cabo mediante TGA en un experimento dinámico entre 25 y 800 °C bajo atmósfera de nitrógeno. En la **Figura 4.5** se muestran las curvas de pérdida de peso tanto del copolímero de bloque como del macroiniciador de PCL.

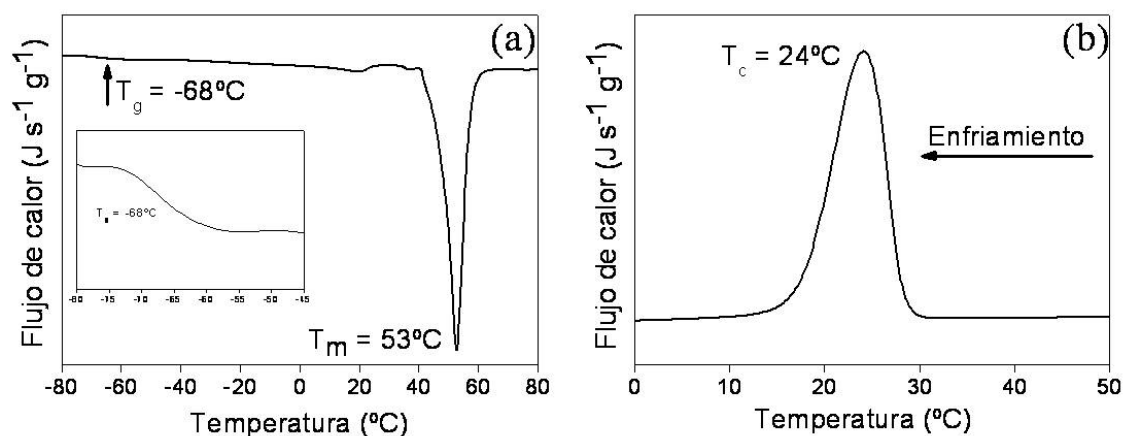
La degradación térmica de la PCL se produce mayoritariamente entre 300 y 450 °C mediante un mecanismo de dos etapas en el cual se da una primera reacción de fragmentación de grupos éster de la cadena principal, y una segunda etapa de despolimerización.<sup>147</sup> Esto se pudo observar claramente en el caso del macroiniciador de PCL, que presentó dos máximos de pérdida de peso en 306 y 414 °C.

En el copolímero de bloque se pudo apreciar una primera etapa de pérdida del 6% de peso entre 100 y 160 °C que corresponde al agua adsorbida, debido a su carácter altamente higroscópico. La segunda etapa de pérdida de peso tuvo lugar en un rango de temperaturas desde 200 hasta 350 °C con el máximo de velocidad de descomposición centrado en 316 °C. Esta etapa está asociada a la pérdida de peso de los fragmentos tipo alquilamino  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$  como se ha descrito anteriormente con sustituciones análogas<sup>148</sup> por otros autores y que corresponde a una pérdida de 76 % de peso. La última etapa se atribuye a descarbonilación y finalmente, degradación de la cadena principal.



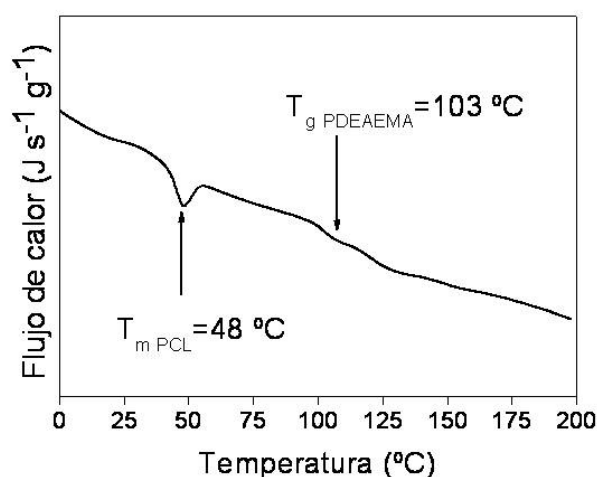
**Figura 4.5.** Curvas de pérdida de peso del macroiniciador de PCL y del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD, en atmósfera de N<sub>2</sub>.

Se estudiaron las transiciones térmicas tanto del macroiniciador de PCL como del copolímero de bloque, mediante DSC. En la **Figura 4.6** se muestran los termogramas del macroiniciador de PCL. La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y la temperatura de fusión ( $T_m$ ) aparecen a  $-68\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $53\text{ }^{\circ}\text{C}$  respectivamente, **Figura 4.6a**. El calor de fusión presentó un valor de  $94.5\text{ J/g}$ . La temperatura de cristalización, **Figura 4.6b**, se determinó por enfriamiento a  $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$  a partir del polímero en estado fundido, siendo de  $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 4.6.** (a) Termograma del macroiniciador de PCL. Se observa la  $T_g$  ampliada. (b) Cristalización del polímero en el enfriamiento.

El termograma del copolímero, **Figura 4.7** muestra el máximo del proceso de fusión del bloque de PCL a  $48\text{ }^{\circ}\text{C}$  asociado a un calor de fusión de  $1.77\text{ J/g}$ . Estos valores son inferiores a los del macroiniciador, debido a que el proceso de cristalización de la PCL en el copolímero se ve afectado por la presencia de los bloques de PDEAEMA. No se ha podido detectar la temperatura de transición vítrea del bloque de PCL en el copolímero de bloque probablemente debido a la reducida presencia de este componente en la composición del copolímero. La temperatura de transición vítrea del bloque de PDEAEMA de naturaleza amorfa se ha observado a  $103\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tal y como muestra la **Figura 4.7**.



**Figura 4.7** Termograma del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD.

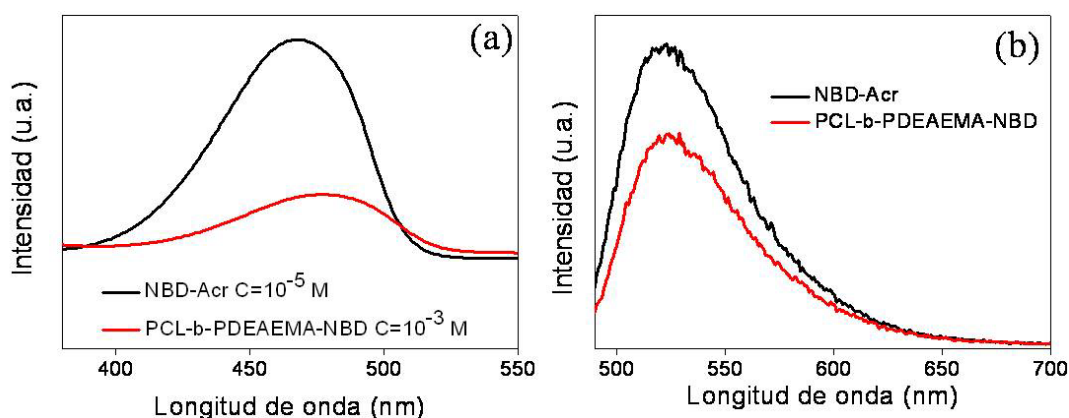
#### 4.1.2.1.3 Caracterización fotoquímica del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD.

Las características fotoquímicas del copolímero de bloque fueron estudiadas mediante espectroscopía de absorción UV y de emisión de fluorescencia.

La **Figura 4.8** muestra: (a) los espectros de absorción UV en disolución de diclorometano del monómero fluorescente NBD-Acr y del copolímero de bloque, y (b) los espectros de emisión de fluorescencia excitando a la longitud de onda del máximo de absorción. Las longitudes de onda de absorción máxima,  $\lambda_{\text{máx}}$ , de NBD-Acr y del copolímero de bloque en disolución fueron registradas a 469 nm y 477 nm respectivamente.

Las propiedades fotoquímicas de esta sonda fluorescente en disolución han sido estudiadas previamente.<sup>103, 149</sup> Esta sonda es de interés aplicado pues su absorción es dependiente del medio, de tal forma que al aumentar la polaridad del disolvente, se produce un ligero desplazamiento batocrómico de la absorción. También se observó una disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia de la sonda, al aumentar la polaridad del medio. En disolventes próticos se obtuvieron rendimientos cuánticos inferiores, hecho que puede explicarse por las fuertes interacciones específicas que se establecen entre disolvente y soluto. Este mismo efecto ha sido observado cuando la sonda es anclada en el copolímeros, **Figura 4.8**, las máximas de absorción se desplazan

a mayores longitudes de onda y la intensidad de emisión de fluorescencia disminuye con respecto a la sonda libre.

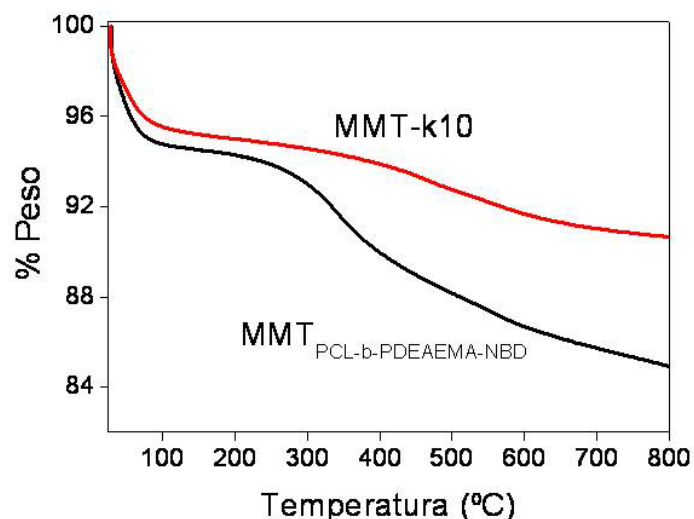


**Figura 4.8.** Espectros de absorción UV (a) y de emisión de fluorescencia (b) del monómero fluorescente NBD-Acr y del copolímero de bloque PCL-b-PDEAEMA-NBD en disolución de diclorometano.

#### 4.I.2.2 Modificación de la MMT-k10.

El copolímero de bloque fue utilizado como modificador de la MMT, el procedimiento se describe en el apartado 3.2.3.1 de la **Parte Experimental**.

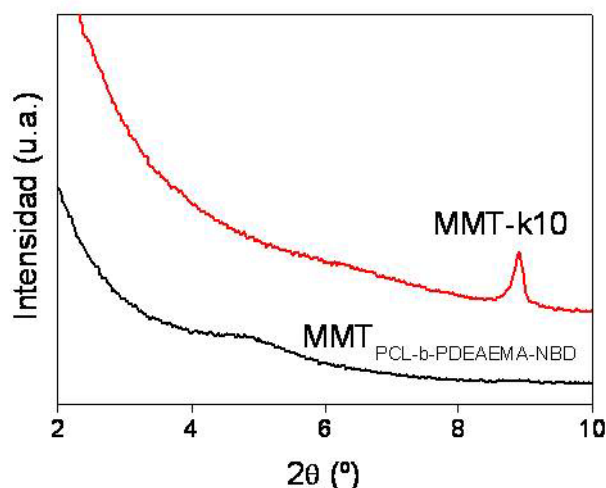
El contenido de modificador orgánico anclado en la MMT, se determinó mediante análisis termogravimétrico de la arcilla natural y la modificada. La MMT-k10 mostró una alta estabilidad térmica y se observa una pérdida de peso total del 9 % debido al agua adsorbida físicamente en la arcilla. La  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  muestra una primera etapa de pérdida por debajo de 200 °C que corresponde al contenido de agua, y una segunda etapa de pérdida de peso más pronunciada entre 250 °C y 450 °C, que corresponde con la descomposición del copolímero de bloque. Como se puede observar en la **Figura 4.9**, la arcilla modificada  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  presenta una pérdida del 6% respecto a la arcilla sin modificar a 800 °C, lo cual corresponde con la cantidad de modificador macromolecular intercalado entre las láminas del silicato.



**Figura 4.9.** Curvas de pérdida de peso de MMT-k10 y MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> en atmósfera de nitrógeno.

La intercalación del copolímero en la arcilla se estudió mediante análisis de difracción de RX. Cuando se analizan los difractogramas correspondientes a las arcillas, **Figura 4.10**, se puede observar cómo tras la modificación con el copolímero, el pico de difracción del plano  $d_{001}$  de la arcilla MMT-k10 centrado en un valor de  $2\theta$  igual a  $8.9^\circ$  (correspondiente a un espaciado de 1 nm) desaparece, y una nueva señal de difracción aparece hacia valores de ángulo menores, con un máximo en  $2\theta = 5^\circ$ , que corresponde con un espaciado de 1.8 nm. El incremento en el espaciado interlaminar es debido a la intercalación del copolímero de bloque entre las láminas de la arcilla, tras la reacción de intercambio catiónico entre los grupos de amonio cuaternario con los cationes metálicos.

Además se observa un ensanchamiento de la señal de difracción que indica una estructura de intercalación menos ordenada espacialmente. Este hecho puede ser explicado en términos de las estructuras de los surfactantes orgánicos, y de la presencia de múltiples grupos cargados positivamente que pueden interaccionar electrostáticamente con diferentes láminas adyacentes.<sup>150</sup>

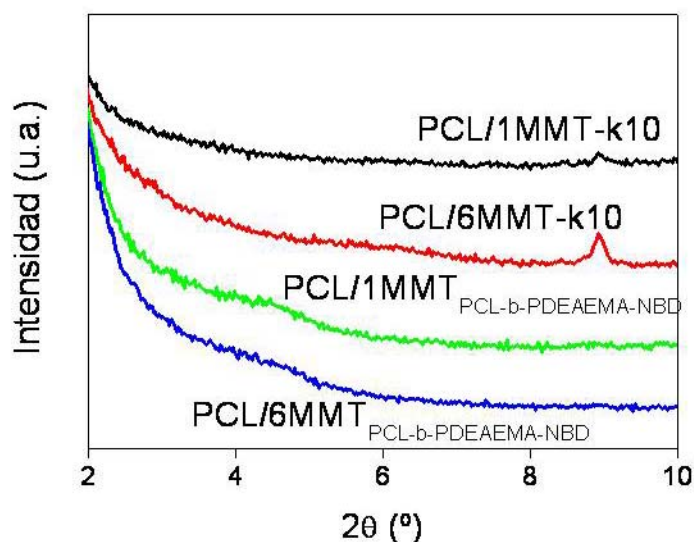


**Figura 4.10.** Difractogramas de RX de MMT-k10 y MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>.

#### 4.1.2.3 Morfología de los materiales basados en PCL y MMT.

Se han preparado mediante extrusión nanocomposites basados en PCL y MMTk10 y MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> con contenidos de las arcillas del 1 al 10 % en peso. La morfología de los materiales, se analizó por difracción de RX. En la **Figura 4.11** se muestran los difractogramas de los materiales preparados con 1 y 6 % en peso de cada una de las arcillas. En el caso de los materiales preparados con MMT-k10 se puede observar el pico de difracción inicial situado en  $2\theta = 8.9^\circ$  y una nueva señal más débil, centrada en  $6.4^\circ$ .

En el caso de las muestras preparadas con MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>, el pico de difracción de  $d_{001}$  de la arcilla desaparece y se produce un incremento del espaciado interlaminar a 2.1 nm, indicando la formación de un sistema intercalado/exfoliado en los nanocomposites. El tratamiento de la arcilla conduce a un aumento del espaciado entre láminas, que junto con el carácter organofílico de la arcilla tratada, permite a las cadenas del polímero penetrar en la estructura laminar induciendo la intercalación y exfoliación.

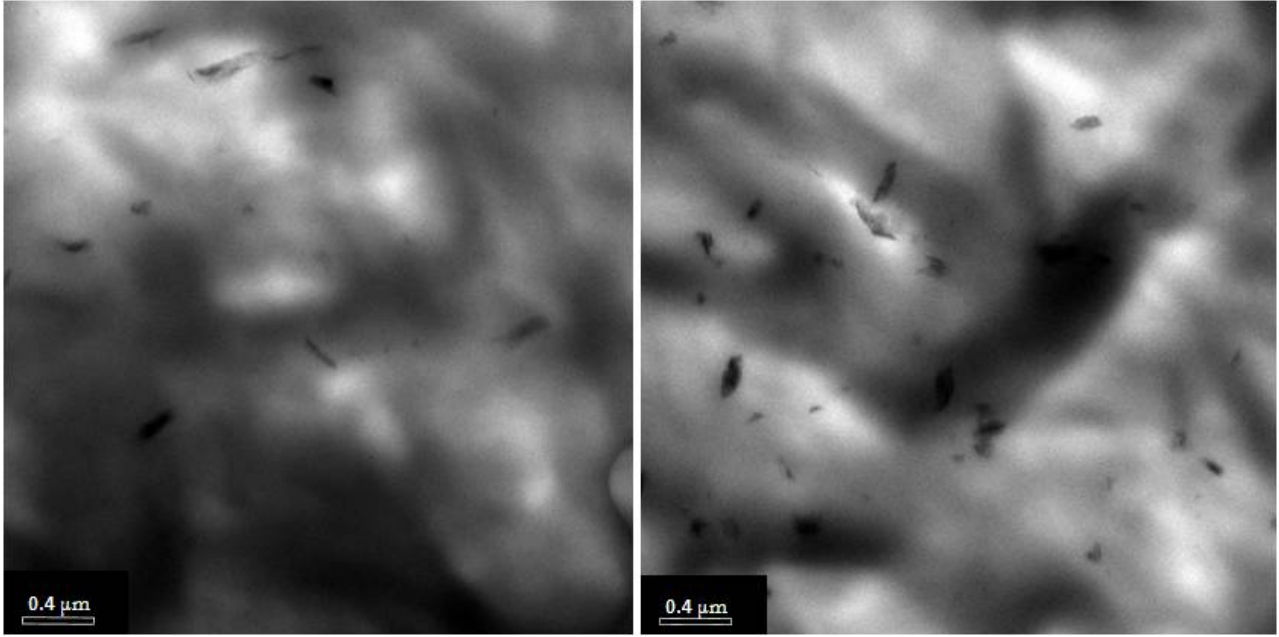


**Figura 4.11.** Difractogramas de los materiales preparados con el 1 y 6% de cada una de las arcillas.

Para determinar el estado de dispersión y exfoliación de las nanopartículas en el material se llevó a cabo el estudio morfológico de los nanocompuestos mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM).

En la **Figura 4.12** se muestran las imágenes de TEM de los materiales  $\text{PCL/1MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  y  $\text{PCL/6MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ , que representan el estado de dispersión de los silicatos en las muestras. En ellas se puede apreciar una distribución homogénea de los silicatos en la matriz, conseguida durante el mezclado en fundido, si bien se pueden encontrar pequeños agregados, la mayor parte de la arcilla se encuentra en forma de tactoides de intercalación y láminas exfoliadas, en la matriz.





**Figura 4.12.** Imágenes de TEM de los materiales PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>.

#### 4.1.2.4 Propiedades superficiales de los materiales.

##### 4.1.2.4.1 Ángulos de contacto y energía libre superficial.

La humectabilidad de los materiales preparados fue investigada a través de medidas de ángulo de contacto con agua y diiodometano. La energía superficial,  $\gamma$ ,<sup>151</sup> se determinó utilizando la aproximación de Owens y Wendt<sup>98</sup> con dos líquidos, la cual está basada en la ecuación de Young Dupré (**Ecuación 4.2**) y la ecuación extendida de Fowkes (**Ecuación 4.3**).

**Ecuación 4.2** 
$$W_A = \gamma_l(1 + \cos\theta)$$

Donde  $W_A$  es la energía de adhesión de un líquido a una superficie,  $\theta$  es el ángulo de contacto de avance del líquido y  $\gamma_l$  es la tensión superficial del líquido.

**Ecuación 4.3** 
$$+ \gamma_{s-l} = \gamma_s \gamma_l - 2(\gamma_s^d \gamma_l^d)^{1/2}$$

donde los subíndices  $s$  y  $l$  representan dos fases: sólida y líquida respectivamente. El superíndice  $d$  representa las interacciones de dispersión.

Mediante la combinación de ambas ecuaciones, se puede obtener la Ecuación de Owens-Wendt (**Ecuación 4.4**):

$$\text{Ecuación 4.4} \quad \gamma_l(1 + \cos\theta) = 2(\gamma_s^d \gamma_l^d)^{\frac{1}{2}} + 2(\gamma_s^p \gamma_l^p)^{\frac{1}{2}}$$

donde el superíndice  $d$  corresponde al componente dispersivo y  $p$  al componente polar, que pueden ser consideradas como dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno, siendo la energía total superficial de un sólido la suma de ambos componentes (**Ecuación 4.5**).

$$\text{Ecuación 4.5} \quad \gamma_s = \gamma_s^d + \gamma_s^p$$

Para determinar las componentes  $\gamma_s^d$  y  $\gamma_s^p$  de la superficie de un sólido, se deben medir los ángulos de contacto con líquidos de diferente polaridad. La **Tabla 4.1** muestra las propiedades en términos de energía superficial para los líquidos agua y diiodometano.<sup>152</sup>

**Tabla 4.1.** Propiedades de energía superficial del agua y el diiodometano.

Líquido	Parámetros de energía libre (mN.m <sup>-1</sup> )		
	$\gamma_l^d$	$\gamma_l^p$	$\gamma_l$
<b>Agua</b>	21.8	51	72.8
<b>Diiodometano</b>	49.5	1.3	50.8

La **Tabla 4.2** recoge todos los valores de los ángulos de contacto experimentales, así como de la energía libre superficial ( $\gamma_s$ ) y sus componentes dispersiva ( $\gamma_s^d$ ) y polar ( $\gamma_s^p$ ).

Algunas de las propiedades superficiales de los materiales, como la humectabilidad y el área de contacto dependen de la naturaleza de dicho material, pero también de su rugosidad, del método que se haya empleado para preparar dicho material, y en el caso de los materiales compuestos, de la naturaleza de la carga.

Cargas de naturaleza diferente confieren propiedades superficiales diferentes al material en el que se encuentran. Como ha sido previamente estudiado en materiales polímeros cargados con MMT hidrofílica,<sup>153-154</sup> la presencia de grupos hidroxilo de la MMT en la superficie de los materiales lleva a un aumento en la humectabilidad de los materiales y una disminución de los valores de ángulo de contacto con agua. Los materiales preparados con MMT-k10 presentaron menores valores de ángulo de contacto respecto a la PCL, y un aumento de la componente polar de la energía libre superficial. De forma contraria se observó un aumento del ángulo de contacto con agua en los materiales preparados con MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> sin embargo la sensibilidad de este parámetro fue menor que para los materiales preparados con MMT-k10. En general este efecto condujo a una disminución de los valores en la componente polar de la energía superficial, que estaría de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores.<sup>155</sup>

Los silicatos laminares están unidos entre sí por fuertes interacciones, y se ha observado que cuando se lleva a cabo la modificación organofílica, el espaciado interlaminar aumenta y la energía superficial disminuye, así además se facilita el proceso de intercalación/exfoliación.<sup>3</sup>

Los valores de ángulo de contacto medidos con diiodometano aumentaron al incorporar silicatos laminares en el polímero, independientemente de la naturaleza hidrofílica de éstos. Sin embargo no mostraron un comportamiento lineal relacionado con la concentración de la carga. De entre todos los materiales preparados, las muestras con MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> mostraron en general mayores valores de ángulo de contacto que sus homólogas preparadas con MMT-k10. Esto tuvo un efecto en la componente dispersiva de la energía superficial, siendo la tendencia general de este parámetro  $PCL > PCL/MMT-k10 > PCL/MMT_{PCL-b-PDEAEMA-NBD}$ .

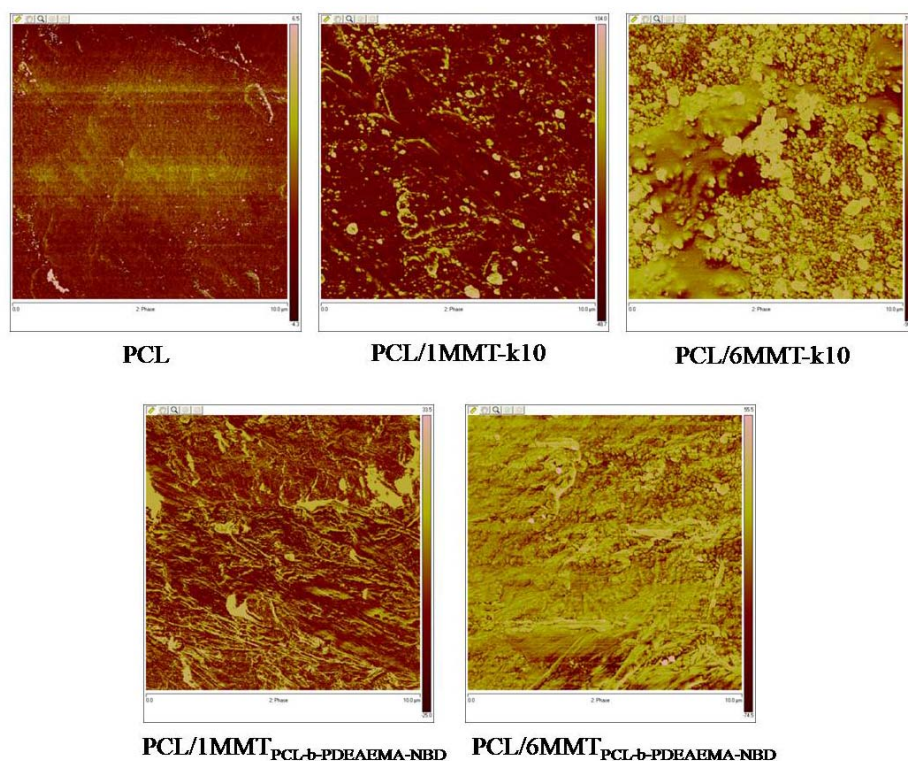
No se encontraron cambios drásticos en la energía libre superficial de los materiales al añadir arcilla hidrofílica o hidrofóbica, sin embargo este parámetro tendió a disminuir en los materiales con arcilla modificada, respecto a aquellos con arcilla hidrofílica.

**Tabla 4.2.** Valores de los ángulos de contacto de las muestras con agua y diiodometano. Energía libre superficial y sus dos componentes, dispersiva y polar.

Muestra	Ángulo de contacto (°)		Energía libre superficial (mN.m <sup>-1</sup> )		
	Agua	Diiodometano	$\gamma_s^d$	$\gamma_s^p$	$\gamma_s$
PCL	79.3 ± 0.7	35.5 ± 3.4	38.8	3.9	42.7
PCL/1MMT-k10	73.3 ± 0.4	39.9 ± 2.1	35.3	7.2	42.5
PCL/2MMT-k10	74.6 ± 1.3	36.8 ± 3.9	37.2	6.1	43.3
PCL/4MMT-k10	78.1 ± 1.3	38.2 ± 1.1	37.2	4.7	41.9
PCL/6MMT-k10	75.4 ± 1.4	42.6 ± 1.5	34.3	6.6	40.9
PCL/10MMT-k10	69.3 ± 3.1	38.5 ± 2.8	35.4	9.1	44.5
PCL/1MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	81.2 ± 1.1	45.5 ± 1.8	33.7	4.3	38.0
PCL/2MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	82.9 ± 2.6	43.6 ± 2.7	35.1	3.4	38.5
PCL/4MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	85.2 ± 4.0	34.0 ± 4.7	40.8	1.8	42.6
PCL/6MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	88.4 ± 0.9	43.6 ± 1.1	36.2	1.7	37.9
PCL/10MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	84.6 ± 0.7	39.9 ± 2.1	37.5	2.5	40.0

#### 4.1.2.4.2 Morfología superficial de los materiales.

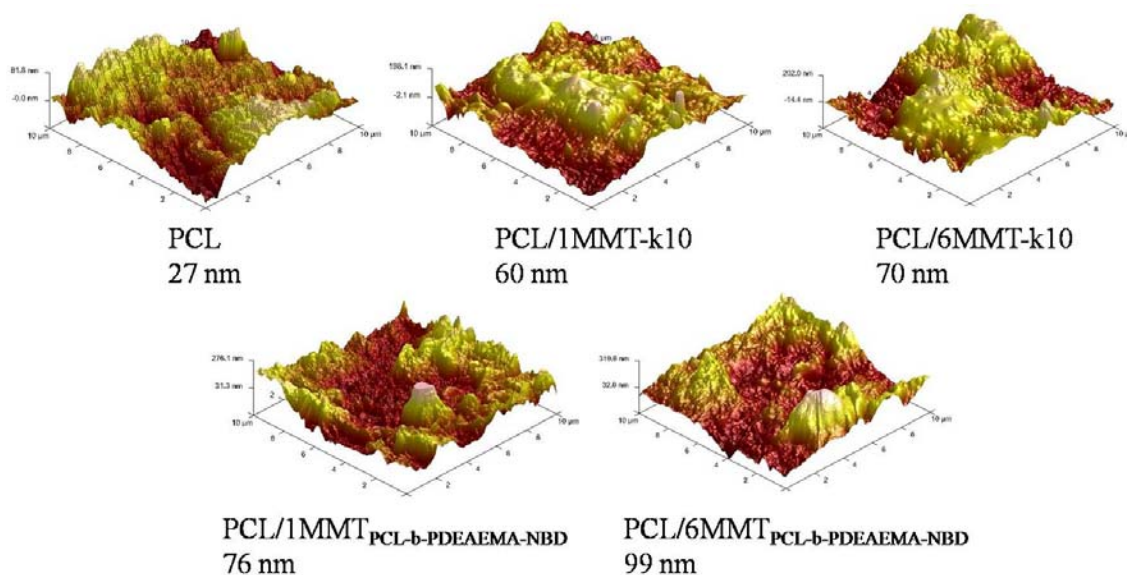
Las imágenes de fase de AFM de los materiales se muestran en la **Figura 4.13**. Las zonas más claras de las imágenes de fase corresponden con los dominios más duros, en los cuales se encuentra la arcilla y las interacciones predominantes entre la muestra y la punta están gobernadas por fuerzas de repulsión.<sup>156</sup> El tamaño, la dispersión y el espaciado de los dominios más claros varían dependiendo de la naturaleza y concentración de la arcilla en la muestra. En el caso de los nanocomposites con 1 y 6 % de MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>, las imágenes revelaron que la arcilla fue dispersada de forma uniforme y aleatoria en la matriz polimérica durante el mezclado en estado fundido. De forma contraria, los composites PCL/MMT-k10 mostraron más estructuras agregadas en áreas parciales de las imágenes de fase de AFM.



**Figura 4.13.** Imágenes de fase de AFM de los materiales PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/6MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>.

La rugosidad de los filmes fue medida a través de imágenes de topografía de AFM en áreas de 5  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$ , como se muestra en la **Figura 4.14**. La rugosidad superficial de los composites incrementó al incorporar MMT-k10, y el valor de esta propiedad aumentó con el contenido de arcilla. Se observó un aumento mayor en el caso de los nanocomposites con MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>. Este comportamiento se corresponde con la morfología de las muestras previamente descritas.

La influencia de la rugosidad en el carácter hidrofóbico ha sido determinada por distintos métodos y ha sido relacionada con propiedades superficiales como la adhesión y la fricción.<sup>157-158</sup> Los resultados obtenidos tanto de valores de ángulo de contacto con agua, como de valores de rugosidad sugieren que las morfologías superficiales de los materiales se ajustan al modelo que relaciona la rugosidad con el carácter hidrofóbico: una superficie rugosa posee un área interfacial sólido-líquido mayor y produce un aumento en el ángulo de contacto en una superficie hidrofóbica y una disminución del ángulo de contacto en una superficie hidrofílica.



**Figura 4.14.** Imágenes de topografía de AFM y valores de rugosidad (nm) de los materiales PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/6MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>.

#### 4.1.2.5 Propiedades térmicas de los materiales.

Las propiedades térmicas de los materiales se estudiaron por DSC y los valores de las transiciones se recogen en la **Tabla 4.3**. Como fue observado por Lepoittevin *et al.*<sup>25</sup> en materiales nanocompuestos de PCL con montmorillonita, la incorporación de ésta, independientemente de su naturaleza hidrofílica o hidrofóbica, no mostró ningún efecto relevante en la  $T_g$  de las muestras. En nuestro caso, la  $T_g$  de los materiales se encontró alrededor de  $-63\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sin que existiera una tendencia relacionada con la concentración o la naturaleza de la carga, lo cual indica que la presencia de los silicatos laminares no tiene una influencia significativa en la región amorfa de los materiales.

Se encontró una mayor influencia en el grado de cristalinidad de las muestras. Con respecto al polímero sin carga, la incorporación de MMT-k10 provocó una disminución de la cristalinidad en todos los casos, esto se debe a que la presencia de mayor número de puntos de nucleación heterogéneos conlleva una reducción en la formación de cristales.<sup>121</sup>

**Tabla 4.3.** Características térmicas de las muestras obtenidas por DSC.

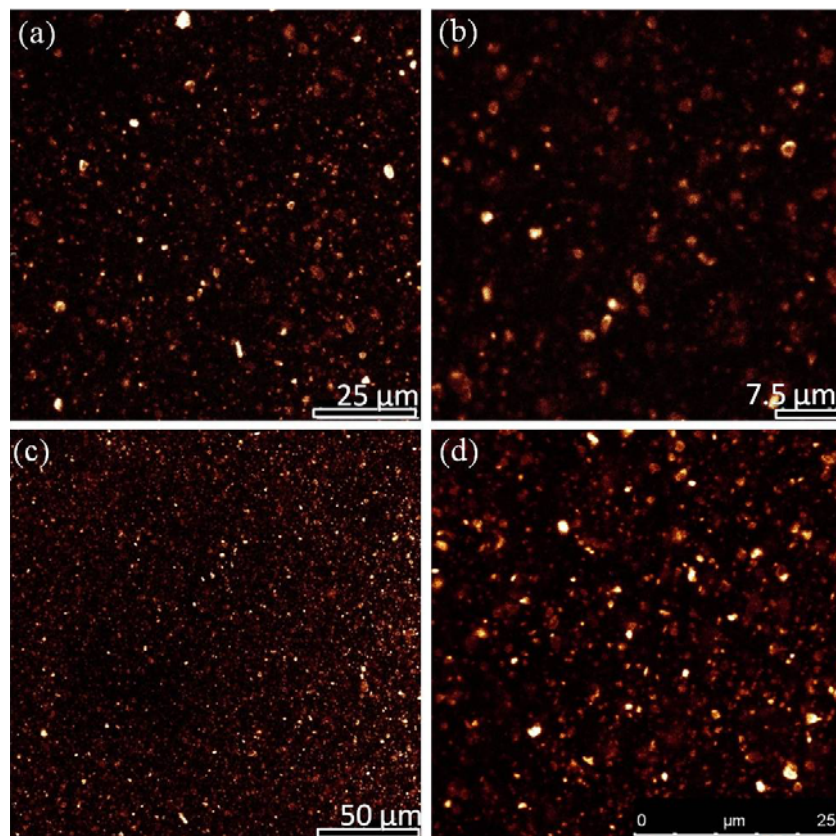
Muestra	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)	%X <sub>cr</sub>	T <sub>c</sub> (°C)
PCL	-63	60	36	31
PCL/1MMT-k10	-62	60	30	30
PCL/2MMT-k10	-63	60	32	30
PCL/4MMT-k10	-63	59	30	31
PCL/6MMT-k10	-63	60	25	31
PCL/10MMT-k10	-63	60	29	32
PCL/1MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	-63	59	41	32
PCL/2MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	-63	58	40	32
PCL/4MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	-63	58	39	33
PCL/6MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	-63	58	39	32
PCL/10MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	-64	58	31	32

Al igual que en el trabajo de Chen *et al.*<sup>13</sup> la incorporación de pequeñas cantidades de arcilla organo-modificadas, induce a un aumento en la cristalinidad de la PCL, que disminuye cuando la concentración de arcilla en el material alcanza valores más altos. Esto se produce porque los tactoides de intercalación/exfoliación y las láminas individuales actúan como agentes nucleantes, incrementando la cristalinidad del polímero, pero al mismo tiempo la fracción de polímero presente entre las láminas no cristaliza debido al mayor confinamiento de las cadenas de polímero intercaladas y a la fuerte interacción con las láminas de arcilla.

Se encontró que la incorporación de carga, independientemente de su naturaleza y de su concentración no tuvo un efecto significativo en las temperaturas de cristalización y fusión de la PCL. Este comportamiento fue observado de forma similar por Wan *et al.* en nanocomposites con silicatos laminares en una matriz de PBT.<sup>159</sup>

La presencia de la sonda fluorescente en el copolímero de bloque anclado a la superficie de las láminas de arcilla, permitió observar la dispersión de la arcilla MMT<sub>PCL-PDEAEMA-NBD</sub> en la matriz de PCL por microscopía confocal de fluorescencia. Las imágenes de PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> examinadas mostraron una dispersión homogénea de la organo-arcilla en la matriz de PCL, que estaría de acuerdo con el análisis por TEM.





**Figura 4.15.** Imágenes de microscopía confocal de fluorescencia de las muestras PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> (a y b) y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> (c y d).

Se llevaron a cabo medidas de decaimiento de fluorescencia en los nanocomposites con 1 y 6% en peso de la arcilla modificada con la temperatura con el objetivo de analizar las propiedades térmicas de los materiales a través de la emisión de fluorescencia de la sonda.

Todas las curvas de decaimiento de fluorescencia se ajustaron a una suma de tres funciones exponenciales usando un algoritmo no lineal.<sup>160</sup> Los resultados ajustados (tiempos de vida de fluorescencia,  $T_i$ , y constantes pre-exponenciales,  $a_i$ ) se utilizaron para calcular la contribución de los componentes en el espectro de estado estacionario (Ecuación 4.6) y los tiempos de vida promediados de la intensidad (Ecuación 4.7) que se muestran en las Tablas 4.4 y 4.5.

**Ecuación 4.6** 
$$\omega_i = a_i T_i / (a_1 T_1 + a_2 T_2 + a_3 T_3)$$

**Ecuación 4.7** 
$$\langle T \rangle_\omega = \omega_1 T_1 + \omega_2 T_2 + \omega_3 T_3$$



**Tabla 4.4.** Tiempos de vida de fluorescencia, contribución de los componentes en el estado estacionario y tiempos de vida promediados para la muestra PCL/1MMT<sub>PCL-b-</sub>

PDEAEMA-NBD.

T (°C)	T <sub>1</sub> (ns)	T <sub>2</sub> (ns)	T <sub>3</sub> (ns)	ω <sub>1</sub>	ω <sub>2</sub>	ω <sub>3</sub>	<T> <sub>w</sub> (ns)
10	0.34	1.85	5.70	5%	26%	60%	3.90
0	0.35	1.88	5.76	4%	23%	60%	3.94
-10	0.36	1.88	5.78	4%	22%	62%	4.02
-20	0.35	1.90	5.80	4%	22%	62%	4.04
-40	0.34	1.91	5.83	3%	19%	64%	4.09
-50	0.40	2.05	5.95	4%	22%	62%	4.13
-60	0.39	2.04	5.89	4%	21%	63%	4.12
-65	0.43	2.05	5.89	4%	21%	63%	4.14
-70	0.38	1.98	5.82	4%	20%	64%	4.13
-90	0.41	2.05	5.89	4%	19%	64%	4.16

**Tabla 4.5.** Tiempos de vida de fluorescencia, contribución de los componentes en el estado estacionario y tiempo de vida promediado de la intensidad para la muestra

PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD.</sub>

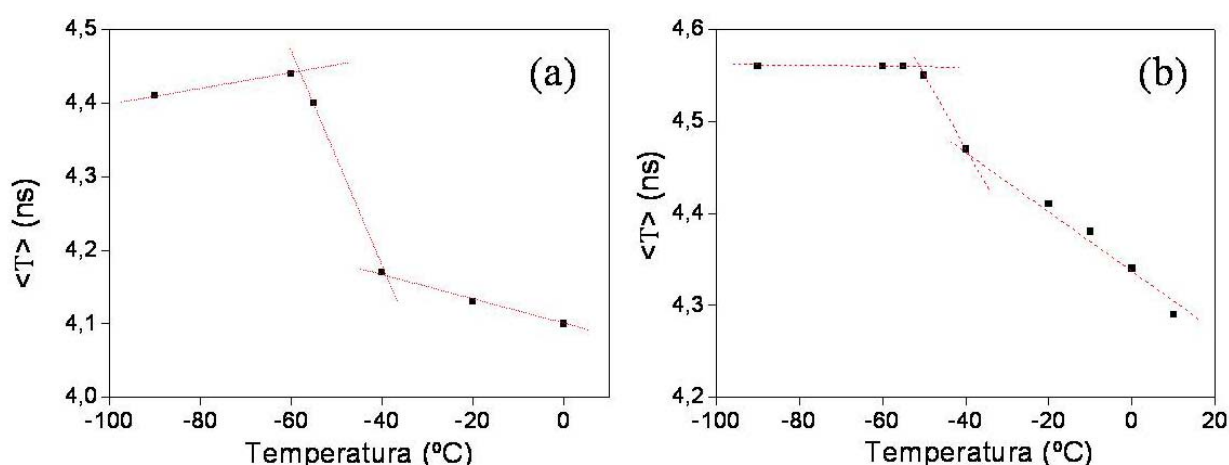
T (°C)	T <sub>1</sub> (ns)	T <sub>2</sub> (ns)	T <sub>3</sub> (ns)	ω <sub>1</sub>	ω <sub>2</sub>	ω <sub>3</sub>	<T> <sub>w</sub> (ns)
10	0.41	1.99	5.80	4%	22%	60%	3.95
0	0.39	1.98	5.78	4%	20%	63%	4.04
-10	0.43	2.06	5.87	4%	20%	63%	4.11
-20	0.43	2.07	5.91	4%	19%	63%	4.13
-40	0.42	2.06	5.91	3%	17%	65%	4.22
-50	0.39	2.04	5.92	3%	16%	66%	4.24
-55	0.44	2.14	6.00	3%	17%	64%	4.24
-65	0.37	1.93	5.78	3%	14%	69%	4.27
-70	0.40	2.03	5.92	3%	15%	67%	4.29
-90	0.44	2.20	6.09	3%	17%	65%	4.34

Como se puede apreciar en la **Figura 4.16** los tiempos de vida promediados de la intensidad disminuyeron al aumentar la temperatura de la muestra y se observa un cambio de pendiente alrededor de -50 °C para ambas muestras, cerca de la T<sub>g</sub> de la matriz de PCL.

En sistemas poliméricos se asume que a muy bajas temperaturas los movimientos traslacionales y rotacionales se encuentran restringidos, y por tanto, se encuentra favorecida la desactivación radiativa de la sonda fluorescente desde su estado excitado

singlete, y por tanto la sonda mostrará su rendimiento cuántico de fluorescencia máximo. Las relajaciones poliméricas engloban una amplia variedad de movimientos de segmentos de cadena de diferente longitud, y esto hace que se produzca un aumento en la fracción de volumen libre del medio. Como consecuencia, en el intervalo de temperaturas donde tienen lugar las relajaciones se producirá un aumento en la constante de velocidad de los procesos de desactivación no radiativos, debido a que los movimientos de rotación interna de ciertos fragmentos de la estructura de la sonda, están más favorecidos y esto conducirá a una disminución de su rendimiento cuántico de fluorescencia. Por tanto, a medida que se eleve la temperatura del material, la intensidad de emisión de fluorescencia disminuirá, pero es de esperar una mayor disminución de la emisión en el entorno de las temperaturas de relajación.

En la **Figura 4.16**, se puede apreciar una mayor sensibilidad de la intensidad de decaimiento de la fluorescencia para la muestra con 1 % en peso de  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  en el intervalo de temperaturas alrededor de la  $T_g$ , respecto a la muestra con 6 % en peso de la carga. Este efecto estaría asociado a la morfología de intercalación/exfoliación del nanocomposite con 1 % en peso de arcilla, observada por TEM, en este caso la sonda fluorescente anclada al copolímero de bloque intercalado en las láminas de la arcilla, tiene una mayor movilidad que en el caso del material con mayor contenido de carga, en el que la sonda se encuentra en un medio más rígido, y los procesos de desactivación radiativa estarán más impedidos.



**Figura 4.16.** Tiempos de vida media promediados para las muestras PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> (a) y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> (b).

#### 4.1.2.6 Propiedades mecánicas de los materiales.

Se analizó el efecto que la concentración y el tipo de arcilla producen en las propiedades mecánicas de los materiales mediante ensayos de tracción mecánica, tal y como se detalla en los procedimientos experimentales. Los datos obtenidos se muestran en la **Tabla 4.6**.

En todas las muestras preparadas con  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ , el módulo de Young aumentó respecto al polímero puro, debido al efecto de refuerzo de las nanopartículas en la matriz, debido a que la buena compatibilización entre las fases permite que la carga mecánica se transmita de la matriz polimérica al refuerzo inorgánico. El incremento en el módulo de Young se produjo con el de la concentración de arcilla, como ha sido observado por otros autores.<sup>112</sup>

El comportamiento mecánico de las muestras preparadas con arcilla hidrofílica fue diferente, ya que el módulo de Young disminuyó al incorporar  $\text{MMT-k10}$  debido a la ausencia de compatibilidad entre matriz y carga en forma de agregados, por tanto la carga externa no se transmite, debilitando los materiales. Cuando se incorporó  $\text{MMT-k10}$  al 10%, el módulo de Young presentó un pequeño incremento respecto al polímero. Lepoittevin y colaboradores<sup>25</sup> encontraron un comportamiento similar, el módulo no presentó una dependencia con el contenido de carga, y se produjo un aumento para una concentración del 10%, probablemente asociado a un aumento de la rigidez del material.

La ductilidad de la PCL también se vio afectada por la presencia del refuerzo, independientemente de su naturaleza, a bajas concentraciones de carga, la elongación a la rotura presentó mayores valores, sin embargo disminuyó en las muestras con concentraciones superiores al 4%. Grandes concentraciones de carga producen fragilidad en la matriz, disminuyendo los valores de elongación a la rotura. Este comportamiento podría ser atribuido a dos factores, el grado de cristalinidad y la dispersión de la arcilla que afecta al área interfacial derivada de la exfoliación.<sup>18</sup>

El mismo comportamiento general se encontró en las medidas de tensión de rotura, que es la máxima tensión que un material puede soportar antes de romperse. La presencia de grandes cantidades de refuerzo endurece los materiales de PCL, y los hace más rígidos, disminuyendo así la tensión de rotura como función de la concentración de arcilla. En general, para una concentración de arcilla dada, los materiales con  $\text{MMT}_{\text{PCL-B-PDEAEMA-}}$

NBD mostraron un mejor refuerzo y también una fragilidad relativamente mayor. Se ha atribuido la disminución en la tensión de rotura a defectos y heterogeneidades presentes en el material, que se acentúan con la concentración de arcilla.<sup>112, 161</sup>

**Tabla 4.6.** Valores de módulo de Young, tensión de rotura y elongación a la rotura de los materiales preparados.

Muestra	Módulo de Young (MPa)	Tensión de rotura (MPa)	Elongación a la rotura (%)
PCL	283 ± 13	31 ± 9	812 ± 103
PCL/1MMT-k10	252 ± 25	46 ± 2	1107 ± 19
PCL/2MMT-k10	232 ± 14	41 ± 5	1031 ± 102
PCL/4MMT-k10	256 ± 13	31 ± 6	713 ± 53
PCL/6MMT-k10	236 ± 18	29 ± 5	684 ± 98
PCL/10MMT-k10	299 ± 15	22 ± 3	541 ± 59
PCL/1MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	284 ± 7	37 ± 11	880 ± 49
PCL/2MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	295 ± 12	35 ± 4	807 ± 66
PCL/4MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	302 ± 11	29 ± 5	727 ± 61
PCL/6MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	394 ± 20	24 ± 4	413 ± 21
PCL/10MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	433 ± 3	27 ± 2	590 ± 18

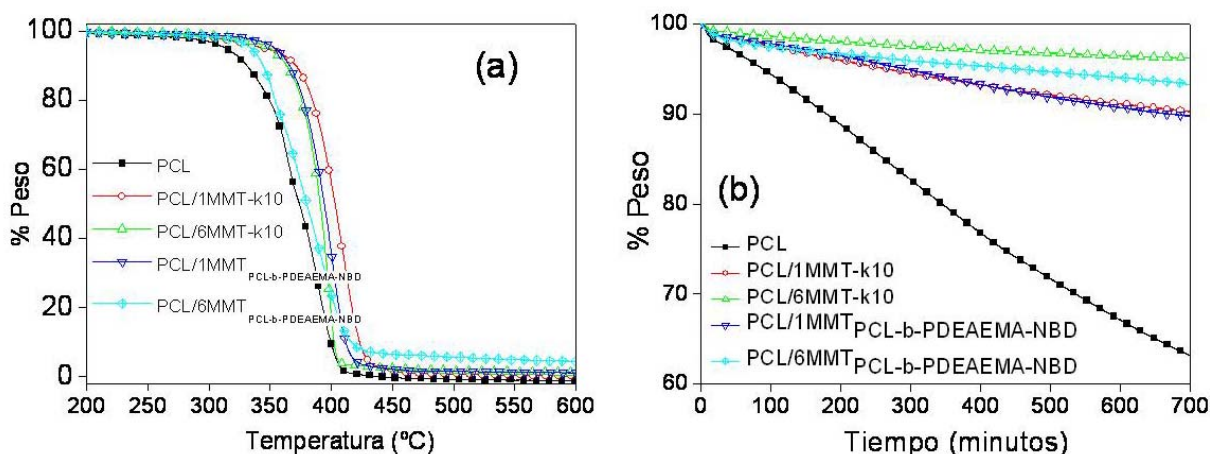
#### 4.I.2.7 Estudio de la estabilidad térmica de los materiales mediante termogravimetría y análisis de emisión de quimioluminiscencia.

El efecto que el contenido de arcilla y la modificación orgánica tienen sobre la estabilidad térmica de los nanocomposites se estudió mediante análisis termogravimétrico y de emisión de quimioluminiscencia.

La **Figura 4.17a** muestra los perfiles de pérdida de peso de la PCL y de las muestras con 1 y 6% en peso de los dos tipos de arcilla, en un intervalo de temperatura desde 25 °C hasta 600°C bajo un flujo de nitrógeno. En las curvas de degradación se puede observar que, cuando se incorpora arcilla en la matriz de PCL, las temperaturas de degradación se desplazan a mayores valores, con respecto a la PCL sin carga. La presencia de estas láminas inorgánicas impide la difusión de los productos volátiles de descomposición a través de la matriz.<sup>14, 25</sup>

Se llevó a cabo el análisis isoterma a 250°C bajo un flujo de aire. Como se muestra en la **Figura 4.17b**, la pérdida de peso de la PCL se produce más rápidamente que en los

materiales con carga, alcanzando valores del 30% después de 10 horas, en comparación con las pérdidas de los materiales con carga, en los que el valor alcanzado es inferior al 10 %. De entre los materiales compuestos, PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> mostró la menor pérdida de peso. Esto se debe al efecto barrera producido por las nanopartículas de arcilla que se encuentran bien dispersas y compatibilizadas en la matriz polimérica, y que aumenta con el contenido de carga.



**Figura 4.17.** Perfiles de pérdida de peso de los materiales PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/6MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> en (a) rampas de temperatura bajo flujo de N<sub>2</sub> y (b) experimentos isoterms a 250°C bajo flujo de aire.

La quimioluminiscencia (QL) de un material polimérico se define como la emisión de luz generada durante la descomposición térmica de las especies de oxidación presentes en la superficie. Durante el proceso de degradación, se generan especies de tipo hidroperóxido, y a través de una reacción de desproporción altamente exoenergética, dan lugar a la formación de grupos cetónicos en estado excitado, que al desactivarse emiten luz denominada quimioluminiscencia. La luz emitida es proporcional a la concentración de especies hidroperóxido, y permite analizar la estabilidad de un material polimérico.

La estabilidad de los materiales PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/6MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> fue estudiada mediante el

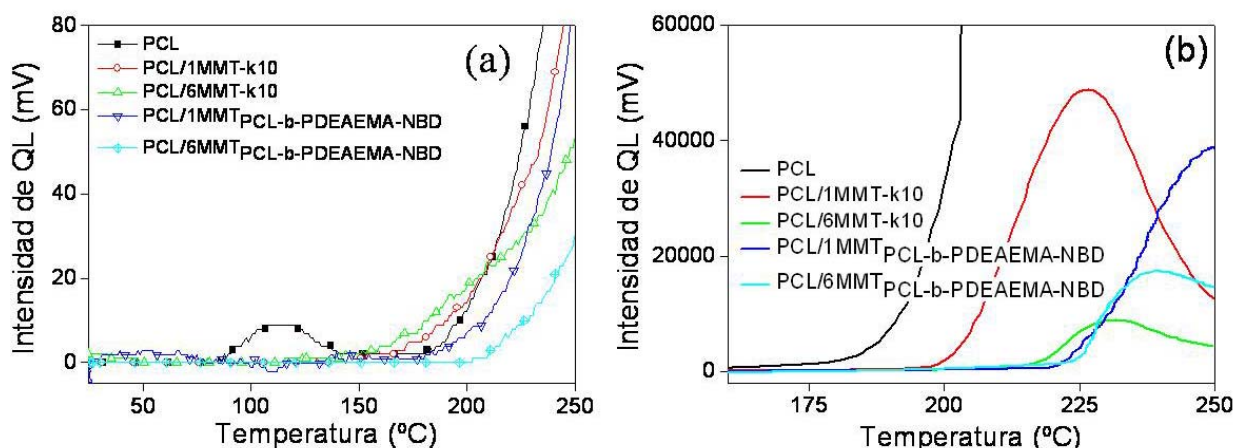
análisis de emisión de QL dinámico en atmósfera de  $N_2$  y las curvas de emisión de QL se muestran en la **Figura 4.18a**.

Las medidas de QL en experimentos dinámicos de temperatura bajo flujo de un gas inerte como el nitrógeno, proporcionan información sobre el estado de oxidación de los materiales estudiados. Para el material preparado sin carga, la emisión de QL fue detectada a temperaturas por encima de 65 °C, que corresponde con la temperatura de fusión del materiales, donde la eficiencia del rendimiento cuántico de la emisión de QL se ve aumentada por el incremento de la movilidad de los hidroperóxidos, lo cual favorece la reacción de desproporción responsable de la emisión. Los materiales cargados con cualquiera de las arcillas empleadas presentaron mayor estabilidad térmica con respecto al material sin carga, como puede apreciarse en la **Figura 4.18a**. En general la intensidad de QL disminuyó y el onset se retrasó a valores más altos de temperatura al aumentar el contenido de arcilla, y este efecto fue más pronunciado para la arcilla organomodificada.

Cuando se analiza la emisión en atmósfera de  $O_2$ , **Figura 4.18b**, se observa un aumento de la intensidad de QL, ya que en estas condiciones se produce la oxidación de las muestras en una reacción controlada por difusión, simultánea a la emisión. Los macrorradicales reaccionan con el oxígeno para dar radicales peróxido, aumentando su concentración, y favoreciendo la reacción bimolecular de terminación de los radicales peroxi para dar productos cetónicos.

La incorporación de partículas de arcilla condujo a una mayor estabilidad de los materiales con respecto a la PCL sin carga. En el caso de PCL/1MMT-k10, la presencia de un 1% de MMT produjo un desplazamiento del onset de la emisión de quimioluminiscencia acompañado de una disminución de la intensidad. Este efecto es más pronunciado con el aumento del contenido de arcilla en los materiales y para las arcillas organomodificadas.

En general, los materiales con MMT-k10 y  $MMT_{PCL-b-PDEAEMA-NBD}$  presentaron una mayor estabilidad frente a la degradación respecto a la PCL, lo que confirma los resultados obtenidos por TGA debido al efecto barrera proporcionado por los silicatos.



**Figura 4.18.** Emisión de quimioluminiscencia de los materiales PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/6MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> en rampas de temperatura bajo flujo de (a) N<sub>2</sub> y (b) O<sub>2</sub>.

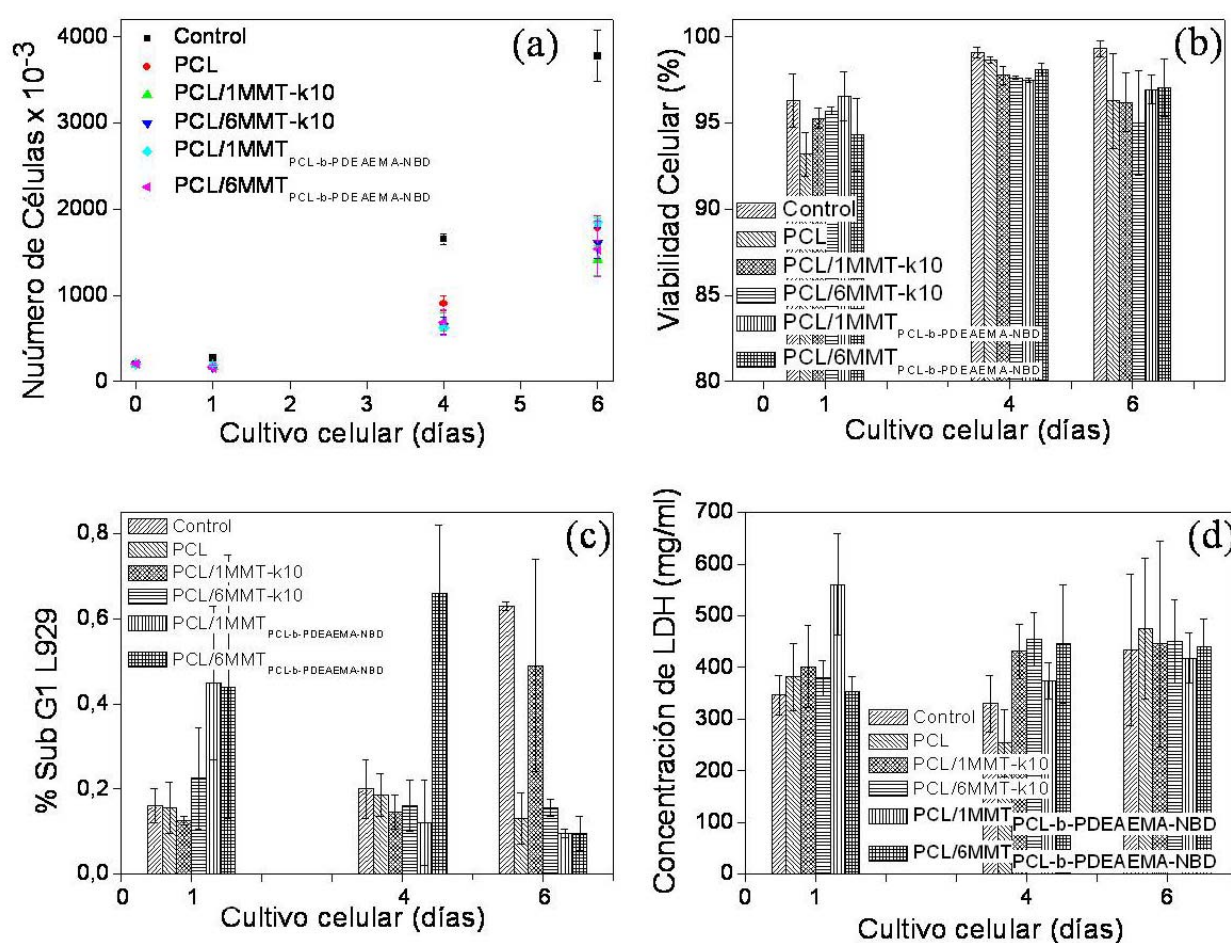
#### 4.1.2.8 Ensayos de crecimiento celular.

Se evaluaron los materiales nanocompuestos basados en PCL y MMT para aplicaciones en dispositivos biomédicos y biomateriales. Para ello, se analizaron distintos parámetros de biocompatibilidad (adhesión, proliferación y liberación de LDH) de fibroblastos murinos L929 sembrados en los biomateriales, y se compararon con los obtenidos para la PCL. Estas células se recomiendan como células de referencia para el estudio de citotoxicidad de biopolímeros. La **Figura 4.19a** muestra el número de células adheridas en la superficie de cada muestra después de 1, 4 y 6 días de cultivo. Los materiales de PCL y PCL/MMT presentaron una adhesión y proliferación de fibroblastos muy similar en sus superficies, independientemente de la rugosidad de las muestras y de la naturaleza de la arcilla incorporada. En general el número de células fue menor que en la superficie de control, tal y como se ha encontrado en previas ocasiones.<sup>162</sup> Es importante tener en cuenta que la superficie de control es un polímero comercial de cultivo (poliestireno) y tratado específicamente para asegurar la adhesión, proliferación y viabilidad óptimas.

Tras los cultivos celulares en los filmes de PCL y PCL/MMT, se encontraron valores altos (92-99 %) de viabilidad celular, **Figura 4.19b**, y se midieron niveles muy bajos de apoptosis (0.1-0.8 %) a través de la fracción de SubG1, **Figura 4.19c**. El análisis de los niveles de LDH en el medio de cultivo, **Figura 4.19d**, realizados en distintos tiempos de

ensayo no mostró cambios significativos con respecto a las células sembradas en el polímero control de cultivo de control, confirmando la integridad de la membrana plasmática de los fibroblastos L929 desarrollados en los biomateriales basados en PCL. No se observaron cambios de tamaño y complejidad celular, analizados por citometría de flujo.

Todos estos resultados demuestran la biocompatibilidad de los filmes de PCL y PCL/MMT, que permitieron el cultivo de fibroblastos murinos L929 en su superficie con gran nivel de viabilidad, bajo nivel de apoptosis y sin daño de la membrana.



**Figura 4.19.** (a) Número de células adheridas en la superficie de las muestras. (b) Viabilidad celular. (c) Valores de la fracción de Sub G1. (d) Concentración de LDH en el medio de cultivo.



#### 4.1.2.9 Actividad antimicrobiana.

La biodegradación de las muestras se llevó a cabo en presencia de dos bacterias: la bacteria Gram-positiva *Bacillus subtilis* y la Gram-negativa *Pseudomonas putida*.

*B. subtilis*, es una bacteria ampliamente distribuida, puede colonizar de forma transitoria la piel o los tractos gastrointestinal o respiratorio, producir infección en pacientes inmunodeprimidos, y puede estar involucrada en infecciones oportunistas. *P. putida* puede causar infecciones en pacientes con una enfermedad subyacente, o expuestos a dispositivos médicos o medicamentos contaminados. Ha sido asociado a bacteriemia, infecciones urinarias, infecciones de heridas e infecciones de las vías respiratorias.<sup>163</sup>

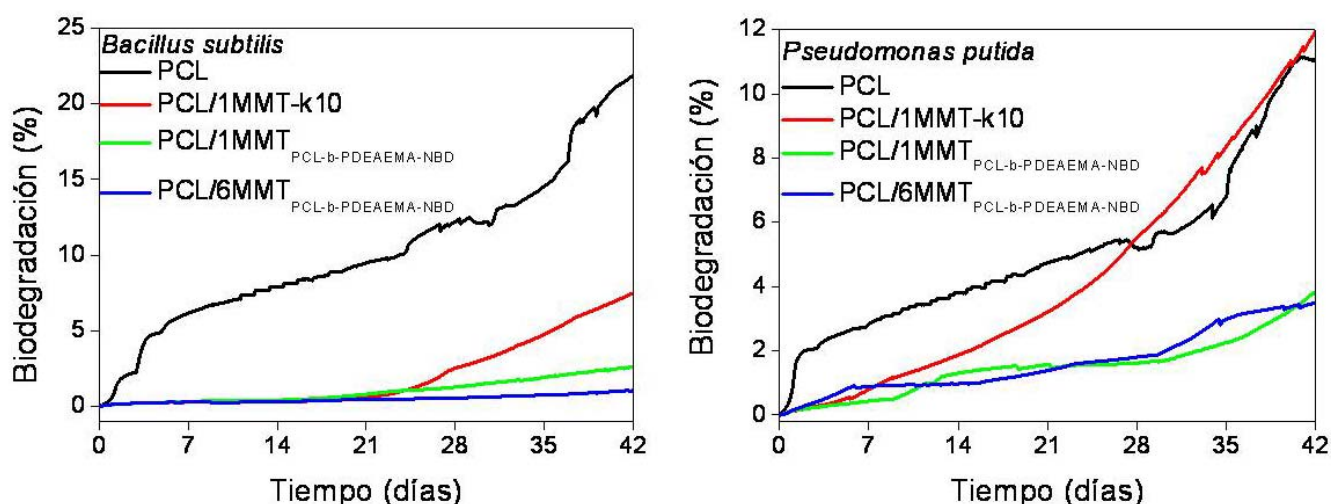
La biodegradación de las muestras PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> fue analizada a través de la producción de CO<sub>2</sub> usando una técnica de medida de impedancia indirecta. El CO<sub>2</sub> producido durante el metabolismo bacteriano en un periodo de seis semanas fue correlacionado con el grado de biodegradación,<sup>164</sup> que se muestra en **la Figura 4.20**.

Ambas cepas bacterianas son capaces de biodegradar la PCL pura prácticamente desde el principio del ensayo biológico alcanzando valores del 23 % y del 11 % de biodegradación, tras 42 días, en los casos de *B. subtilis* y *P. putida* respectivamente.

En la biodegradación por *B. subtilis*, PCL/1MMT-k10 mostró una pequeña inhibición respecto al material sin carga, aunque su grado de biodegradación es mayor que en el caso de los materiales con arcilla organo-modificada. Los perfiles de biodegradación de PCL y PCL/1MMT-k10 para *P. putida* fueron muy similares.

Es conveniente remarcar que en ambos casos, la biodegradación de los nanocomposites con MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> se encontró inhibida o retrasada con respecto a las muestras PCL y PCL/1MMT-k10. Esto ha sido atribuido a la presencia de cationes amonio cuaternario en la interfase polímero/arcilla. Estos resultados concuerdan con el efecto antimicrobiano de la funcionalidad amonio cuaternario descrita por otros autores.<sup>69, 74</sup> Los grupos amonio cuaternario interaccionan fuertemente con especies aniónicas situadas en la membrana bacteriana, desestabilizándola y generando dominios hidrofílicos y cambios de permeabilidad en ella, produciendo eventualmente la ruptura de la membrana.

Se encontró que la biodegradación en los materiales cargados con  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  estaba relacionada con el tipo de bacteria empleada. Comparando el grado de biodegradación de estos materiales con el de la PCL en cada caso, se observa que el grado de biodegradación es ligeramente menor en aquellas muestras expuestas a *B. subtilis* que aquellas expuestas a *P. putida*. El modo de acción de los grupos amonio cuaternario como agentes antibacterianos está sujeto a las propiedades de las membranas bacterianas, ya que mientras que las bacterias Gram-positivas tienen una pared celular más gruesa pero no tienen membrana externa, las Gram-negativas poseen una pared celular más fina pero sí cuentan con una membrana externa. Como ha sido observado por otros autores,<sup>74, 79, 81</sup> la eficiencia de los materiales con actividad antibacteriana fue mayor en presencia de una bacteria Gram-positiva como *B. subtilis*.



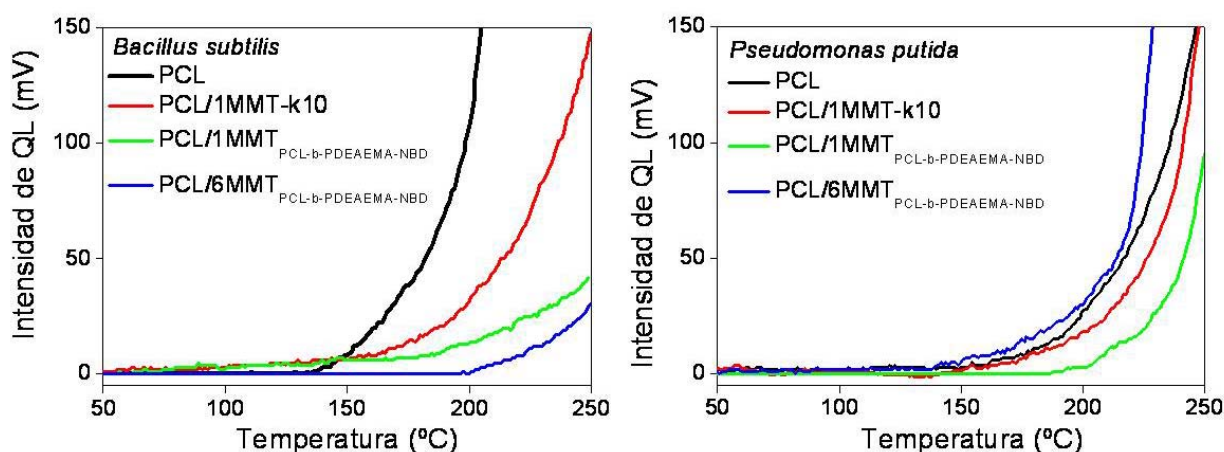
**Figura 4.20.** Perfiles de biodegradación de las muestras PCL, PCL/1MMT-k10, PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> en un periodo de 42 días, en presencia de *B. subtilis* y *P. putida*.

El análisis de la emisión de quimioluminiscencia ha sido utilizado en la bibliografía para evaluar el grado de oxidación producido por microorganismos en materiales polímeros, como en gelatinas, triacetato de celulosa y polietileno.<sup>165-167</sup> y para el seguimiento de la degradación de la PCL en medios biológicos en ausencia y presencia de fibroblastos.<sup>168</sup>

La emisión de quimioluminiscencia de los materiales tras 42 días de exposición bacteriana fue recogida en un experimento dinámico de temperatura bajo nitrógeno, tal

y como se muestra en la **Figura 4.21**. En general se observaron mayores intensidades de emisión de QL y valores de onset de temperatura más bajos para todas las muestras tras el periodo de biodegradación, con respecto a las muestras iniciales, y este efecto fue más pronunciado en los experimentos realizados en presencia de *B. subtilis*, comparado con aquellos realizados con *P. putida*, lo cual corresponde con un mayor grado de biodegradación producido por la bacteria de tipo Gram-negativo. En el caso de los materiales expuestos a *B. subtilis*, la PCL mostró el *onset* de temperatura de emisión de QL más bajo, así como la intensidad más alta, comparado con el resto de los materiales reforzados. La muestra PCL/1MMT-k10 mostró un *onset* ligeramente desplazado hacia valores más altos de temperatura, con respecto a la PCL. Estos resultados concuerdan con los resultados de biodegradación y con las propiedades antibacterianas que la arcilla confiere al material y que se traduce en la mayor estabilidad de la matriz polimérica.

Los materiales preparados con  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  mostraron una emisión de QL menor, confirmando los resultados obtenidos a partir de la captura de  $\text{CO}_2$  producida durante el metabolismo bacteriano y por tanto disminuyendo las especies de oxidación y la emisión de QL. Otros factores como el grado de cristalinidad deben tenerse en cuenta. Debido a que la biodegradación comienza en la región amorfa, es razonable esperar que la velocidad de biodegradación sea más lenta en aquellas muestras con mayor grado de cristalinidad. En los nanocomposites PCL/  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ , la actividad antimicrobiana debida a los cationes cuaternarios estará localizada cerca de la interfase, donde la cristalización de las cadenas poliméricas intercaladas estará más impedida.



**Figura 4.21.** Emisión de quimioluminiscencia de las muestras biodegradadas por *B. subtilis* y *P. putida* bajo atmósfera de nitrógeno, en experimentos dinámicos de temperatura.

## **CAPÍTULO 4**

### **PARTE II**



## PARTE II

### MODIFICACIÓN SUPERFICIAL DE LOS MATERIALES NANOCOMPUESTOS CON PLASMA OXIDANTE.

#### 4.II.1 Introducción.

El plasma es considerado el cuarto estado de la materia. Consiste en un conjunto de electrones e iones, así como de especies atómicas y moleculares neutras que exhiben un comportamiento colectivo en presencia de un campo electromagnético.<sup>169</sup>

El tratamiento con plasma se considera una herramienta versátil para la modificación superficial de materiales poliméricos. Además de ser un proceso eficiente y llevarse a cabo a temperatura ambiente y en ausencia de disolventes, la principal ventaja de esta técnica es el confinamiento a la capa superficial del material que permite introducir un número de propiedades interfaciales ventajosas en la superficie de un polímero sin afectar a las propiedades de masa del material, que conserva sus propiedades inherentes, por ejemplo las propiedades mecánicas. El tratamiento superficial con plasma se ha aplicado para la modificación de las propiedades químicas o eliminación de contaminantes,<sup>170</sup> más que para la modificación estructural (morfología, topografía, rugosidad).

Dependiendo de la naturaleza del gas usado para generar plasma, se pueden realizar diferentes modificaciones químicas en la superficie de un polímero: ablación química,<sup>171</sup> entrecruzamiento o activación mediante formación de grupos funcionales.<sup>171</sup>

Las propiedades físicas y químicas superficiales de un polímero determinarán sus aplicaciones. La energía libre superficial, humectabilidad, morfología, sitios activos específicos, rugosidad, conductividad o adhesión son algunas de las propiedades superficiales que deben ser estudiadas, analizadas y en muchos casos modificadas, para hacer que un polímero sea más adecuado para una aplicación específica.

La modificación de las propiedades superficiales tanto estructurales como químicas de sistemas poliméricos con separación de fases (polímeros semicristalinos, copolímeros de bloque, materiales híbridos organo-inorgánicos) es de gran importancia a la hora de

conseguir una gran variedad de superficies interfaciales. La nanoestructuración de materiales poliméricos con separación de fases ha aumentado su nivel de interés rápidamente debido al rápido crecimiento del campo de la nanotecnología. La nanoestructuración de materiales poliméricos con separación de fases mediante ablación con plasma, está basado en el principio de que distintos polímeros poseen diferentes velocidades de ablación al ser expuestos al plasma de un gas, y en la diferencia entre la velocidad de ablación de las fases amorfa y cristalina en los polímeros semicristalinos. La arquitectura en la nanoescala de superficies estructuradas mediante ablación con plasma está gobernada por la separación de fases del sistema polimérico. Por tanto, mediante el uso de ablación por plasma como técnica de modificación superficial, es posible la obtención de distintas superficies poliméricas nanoestructuradas con distintas propiedades interfaciales.

La ablación química implica la reacción química de especies orgánicas de la superficie con especies iónicas y radicales libres altamente reactivos del plasma para formar productos volátiles que son liberados de la superficie de la muestra.<sup>172</sup> A parte de la modificación topológica que se produce tras una modificación de este tipo, el tratamiento con plasma de oxígeno en una superficie polimérica conlleva la generación de nuevas especies de oxidación, que se han caracterizado generalmente por espectroscopía de infrarrojo con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) y espectroscopía fotoelectrónica de RX (XPS).<sup>173</sup>

Tahara y colaboradores<sup>174</sup> han llevado a cabo la evaluación de especies peróxido mediante análisis de la emisión de QL en polietileno tras un tratamiento con plasma. Los peróxidos formados durante el tratamiento con plasma, se hacen reaccionar con una disolución de luminol, y se analiza la emisión de QL emitida por la muestra.

Como se ha comentado previamente, la PCL es un polímero muy adecuado para aplicaciones en implantes de largo plazo debido a sus buenas propiedades mecánicas y de biocompatibilidad, y su velocidad de degradación muy lenta.<sup>112-113</sup> Sin embargo su hidrofobicidad, inercia química y baja energía superficial suponen limitaciones para sus aplicaciones *in vivo*. El grado de hidrofobicidad o hidrofiliidad juegan un papel fundamental en la adhesión celular durante el periodo inicial de sembrado celular y por tanto, en la formación de tejidos.<sup>175</sup> Las propiedades superficiales de la PCL han sido modificadas mediante varios métodos, como deposición de filmes,<sup>176</sup> evaporación de

preparados en disolución<sup>177</sup> u oxidación.<sup>178</sup> La PCL se ha modificado superficialmente con plasma para mejorar su biocompatibilidad y adhesión celular.<sup>175, 179-180</sup>

Hasta ahora, sólo existen unos pocos trabajos sobre la modificación superficial de materiales nanocompuestos basados en polímero y silicatos laminares. Fong y colaboradores<sup>87</sup> describen una mayor resistencia a la abrasión de nanocomposites de poliamida-6 con silicatos laminares sometidos a tratamiento con plasma. Atribuyeron estos efectos al entrecruzamiento producido por el plasma y a la mayor resistencia a la abrasión de la arcilla presente en la superficie.

El objeto del estudio descrito en este apartado es la exploración de las posibilidades del plasma como herramienta para modificar las propiedades superficiales de los materiales nanocompuestos basados en PCL y MMT. La modificación selectiva y eficiente de los nanocomposites de PCL/silicatos laminares, presenta un gran interés tanto desde el punto de vista académico, para determinar la influencia de la morfología y el contenido de la carga en la respuesta del material, como aplicado para modular la adhesión bacteriana en el material.

#### **4.II.2 Resultados y discusión.**

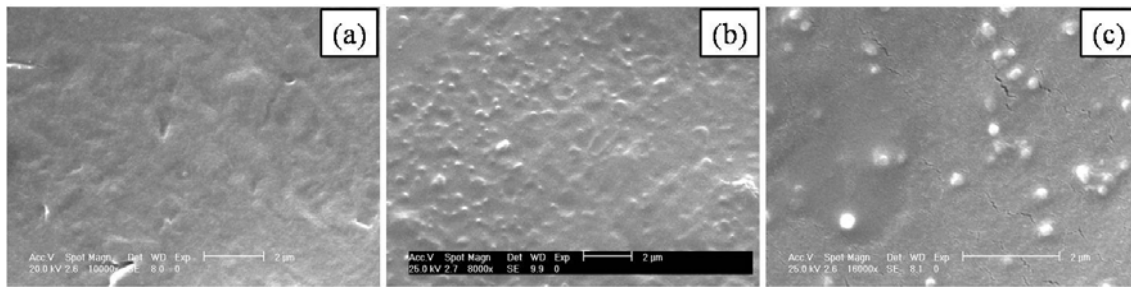
En este apartado los nanocomposites preparados mediante mezclado en fundido, han sido tratados con plasma de oxígeno y caracterizados mediante SEM, AFM, medidas de los ángulos de contacto con agua, ATR-FTIR y análisis de emisión de QL, para determinar las modificaciones superficiales en los materiales.

##### **4.II.2.1 Caracterización topográfica y propiedades superficiales.**

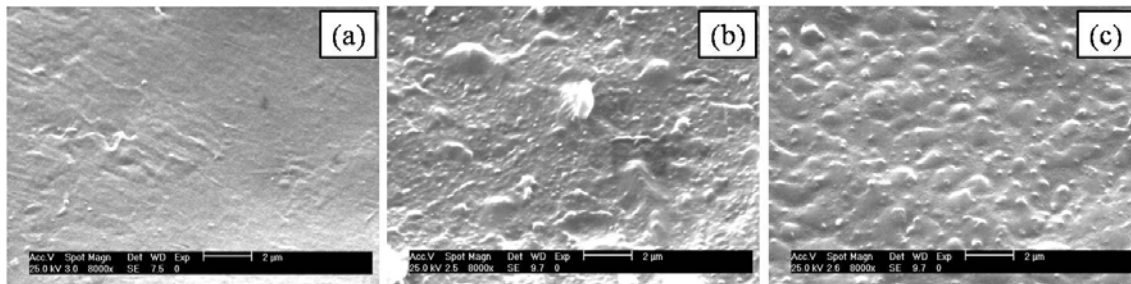
###### **4.II.2.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).**

Las superficies de los materiales fueron estudiadas por SEM antes y después de tratamiento de 1000 s y 5000 s de duración, con objeto de observar las modificaciones topográficas producidas por el plasma oxidante. Las **Figuras 4.22 a 4.26** muestran la evolución de los materiales con el tratamiento.

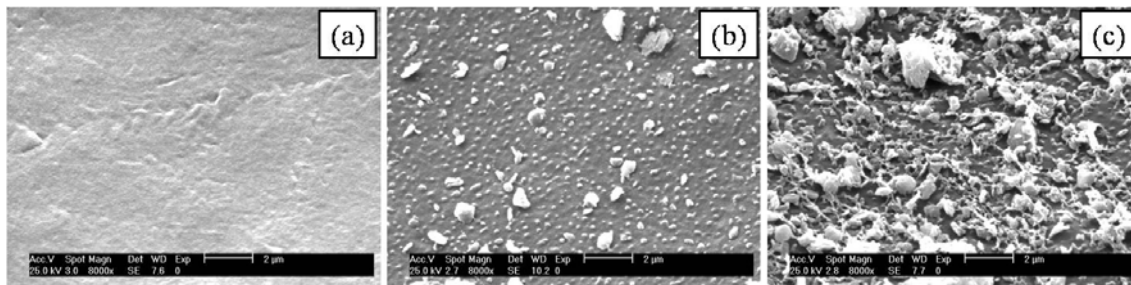




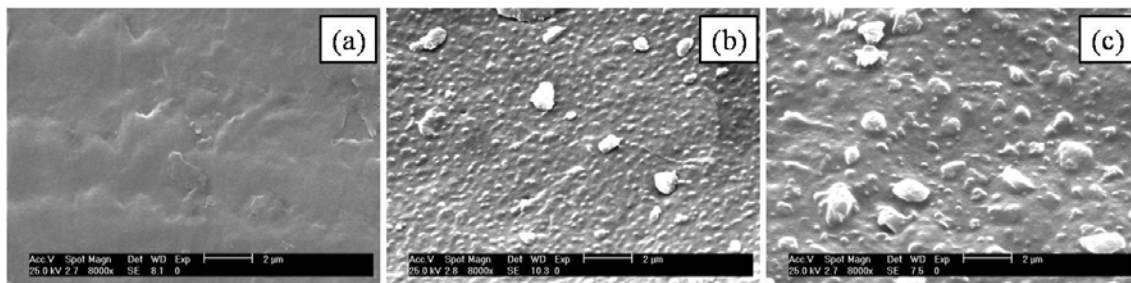
**Figura 4.22.** Imágenes de SEM de la muestra PCL inicialmente (a) después de 1000 s (b) y 5000 s (c) de tratamiento de plasma oxidante.



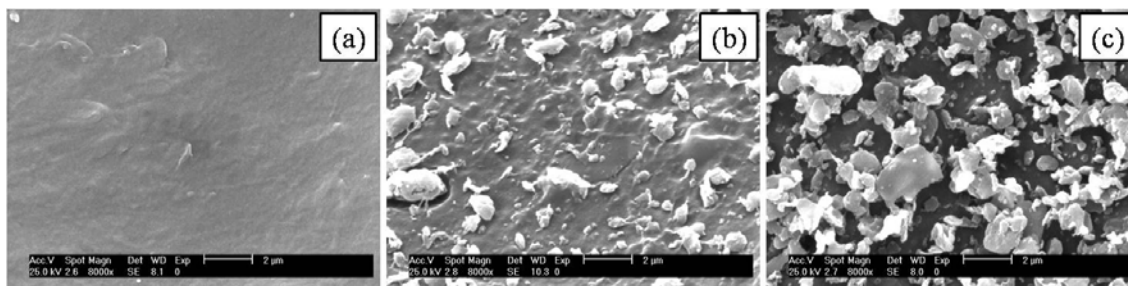
**Figura 4.23.** Imágenes de SEM de la muestra PCL/1MMT-k10 inicialmente (a) después de 1000 s (b) y 5000 s (c) de tratamiento de plasma oxidante.



**Figura 4.24.** Imágenes de SEM de la muestra PCL/6MMT-k10 inicialmente (a) después de 1000 s (b) y 5000 s (c) de tratamiento de plasma oxidante.



**Figura 4.25.** Imágenes de SEM de la muestra PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA</sub> inicialmente (a) después de 1000 s (b) y 5000 s (c) de tratamiento de plasma oxidante.



**Figura 4.26.** Imágenes de SEM de la muestra  $\text{PCL}/6\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  inicialmente (a) después de 1000 s (b) y 5000 s (c) de tratamiento de plasma oxidante.

Para todos los materiales estudiados, después de la exposición al plasma se observó el desarrollo de distintos tipos de rugosidades en las superficies, en comparación con los materiales iniciales, que dependía de la composición del material y el tiempo de tratamiento.

Tras los tratamientos de 1000 s y 5000 s, PCL y  $\text{PCL}/1\text{MMT-k10}$  mostraron superficies en las que se observa un ligero aumento de rugosidad con la duración del tratamiento. Para la muestra con mayor concentración de arcilla,  $\text{PCL}/6\text{MMT-k10}$  tras ser sometida al tratamiento con plasma durante 1000 s, se observó como parte de la materia orgánica fue eliminada de la superficie, y partículas de arcilla en forma de agregados quedan en la superficie, aumentando su contenido después de 5000 s de ablación.

Este comportamiento es más acusado en los nanocomposites con arcilla organomodificada en los que el incremento de la rugosidad tiene lugar tras 1000 s de tratamiento con plasma y es más significativo con el aumento de la concentración de arcilla y tiempo de tratamiento.

Este efecto estaría de acuerdo con los resultados de TEM y DRX, la modificación de la arcilla conduce a un aumento en el espaciado interlaminar y a una mejora de la compatibilización con la matriz y dispersión en ella, dando lugar a una morfología de intercalación/exfoliación en los nanocomposites preparados con  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ , a diferencia de los materiales preparados con  $\text{MMT-k10}$ , en los que hay mayor presencia de una morfología de agregación.

Mediante el tratamiento con plasma de oxígeno tiene lugar la ablación de la materia orgánica, quedando en la superficie las partículas de arcilla. Un efecto similar fue observado por Smole<sup>181</sup> y colaboradores, que usaron plasma oxidante sobre

nanocomposites de polipropileno/silicatos laminares, eliminando la fase orgánica, observando así la dispersión de la arcilla en la matriz.

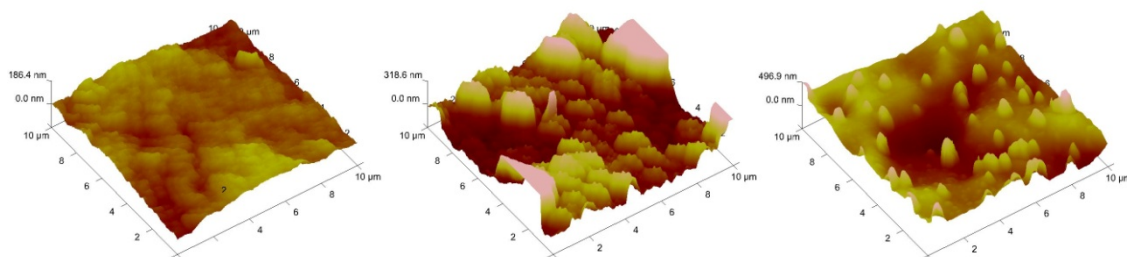
#### 4.II 2.1.2 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

Las modificaciones topológicas de las superficies poliméricas, originadas por el tratamiento con plasma se pueden cuantificar en términos de rugosidad mediante AFM. Clásicamente, el análisis de imágenes de AFM ha sido una herramienta muy útil para medir este fenómeno,<sup>182</sup> que hemos descrito en forma de dos parámetros: la rugosidad media ( $R_q$ ) y la distancia entre la parte superior e inferior de las protuberancias ( $R_{\max}$ ). Estos parámetros se calcularon para las muestras iniciales así como para las que se sometieron a 1000 y 5000 s de tratamiento con plasma. Los datos se muestran en la **Tabla 4.7**.

**Tabla 4.7.** Datos de  $R_q$  y  $R_{\max}$  de las muestras en función del tiempo de tratamiento.

Muestra	Tiempo (s)	$R_q$ (nm)	$R_{\max}$ (nm)
PCL	0	27	156
	1000	210	1406
	5000	143	1130
PCL/1MMT-k10	0	60	433
	1000	81	760
	5000	198	1489
PCL/1MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	0	76	564
	1000	160	1063
	5000	269	1655
PCL/6MMT-k10	0	70	380
	1000	135	1128
	5000	195	1286
PCL/6MMT <sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>	0	99	555
	1000	228	1549
	5000	453	2861

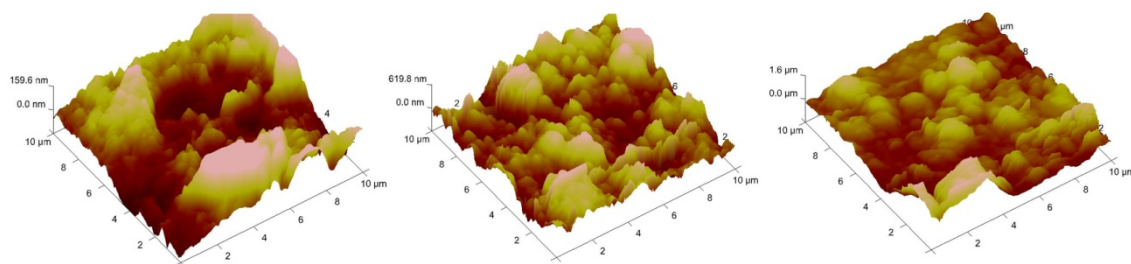
La muestra inicial de PCL presentó una superficie relativamente plana cuya rugosidad aumentó tras el tratamiento con plasma, encontrándose un incremento en los valores de  $R_q$  y  $R_{\max}$ . La **Figura 4.27** muestra la evolución de la rugosidad de la PCL al incrementar el periodo de tratamiento con plasma.



**Figura 4.27.** Evolución de la superficie de la PCL en función del tratamiento con plasma: 0 s, 1000 s y 5000 s.

Inicialmente todas las muestras reforzadas mostraron una rugosidad superficial mayor, respecto a la PCL, lo cual es atribuido a la presencia de partículas distribuidas en la matriz. Después del tratamiento con plasma, todas las muestras experimentaron un incremento de los valores de  $R_q$  y  $R_{máx}$ , que aumentaron con el tiempo de exposición, ya que se produce mayor ablación química y por tanto tiene lugar una mayor presencia de los silicatos en la superficie. Además, como cabía esperar, la rugosidad aumentó con la concentración de carga en ambos casos. Este fenómeno denominado auto-pasivación ha sido descrito en la bibliografía.<sup>87</sup>

Los materiales preparados con la arcilla modificada,  $PCL/1MMT_{PCL-b-PDEAEMA-NBD}$  y  $PCL/6MMT_{PCL-b-PDEAEMA-NBD}$ , presentaron mayores valores de rugosidad que sus homólogos preparados con arcilla natural. Esto se debe a que en el caso de las muestras con arcilla modificada, ésta se encuentra en estado de intercalación y exfoliación y se ha alcanzado una mayor superficie de contacto entre las dos fases, por tanto la presencia de los silicatos es mayor que en los materiales con MMT, en los que una gran fracción de la arcilla se encuentra agregada y el volumen de área de contacto entre fases es menor. La **Figura 4.28** muestra la evolución de la rugosidad de  $PCL/6MMT_{PCL-b-PDEAEMA-NBD}$  con el tiempo de exposición.



**Figura 4.28.** Evolución de la superficie de la  $\text{PCL/6MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  en función del tratamiento con plasma: 0 s, 1000 s y 5000 s.

#### 4.II.2.1.3 Medidas de ángulo de contacto.

Los valores de ángulo de contacto con agua en la superficie de los filmes fueron medidos para evaluar los cambios que el plasma de oxígeno produce en la humectabilidad de los materiales. La **Tabla 4.8** recoge los valores de ángulo de contacto así como la desviación estándar de las muestras, antes y después de 100, 500, 1000 y 5000s de exposición.

**Tabla 4.8** Valores de ángulo de contacto y desviación estándar de los materiales en función del tiempo de exposición.

Muestra	Tiempo (s)				
	0	100	500	1000	5000
<b>PCL</b>	$79.3 \pm 0.7$	$49.3 \pm 0.3$	$41.8 \pm 4.1$	$46.6 \pm 2.3$	$49.3 \pm 2.1$
<b>PCL/1MMT-k10</b>	$73.3 \pm 0.4$	$44.6 \pm 1.4$	$46.8 \pm 2.3$	$45.6 \pm 3.9$	$53.6 \pm 0.9$
<b>PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub></b>	$81.2 \pm 1.1$	$48.5 \pm 3.4$	$46.0 \pm 3.0$	$56.6 \pm 1.9$	$55.8 \pm 1.6$
<b>PCL/6MMT-k10</b>	$75.4 \pm 1.4$	$51.2 \pm 2.3$	$44.6 \pm 2.2$	$49.7 \pm 3.9$	$27.7 \pm 2.8$
<b>PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub></b>	$88.4 \pm 0.5$	$54.8 \pm 1.7$	$59.2 \pm 1.6$	$53.8 \pm 1.0$	-

La exposición al plasma de oxígeno condujo a una disminución del ángulo de contacto con agua para todos los materiales,<sup>169, 183</sup> que es atribuido a dos efectos. Primero, la ablación por plasma produce un aumento en la rugosidad de la superficie, y por tanto en el área de contacto entre el líquido y el substrato sólido, incrementando los puntos de unión y la hidrofiliidad.<sup>178, 183-184</sup> Segundo, la generación de grupos funcionales que favorecen el aumento de la componente polar de la energía libre superficial, y por tanto

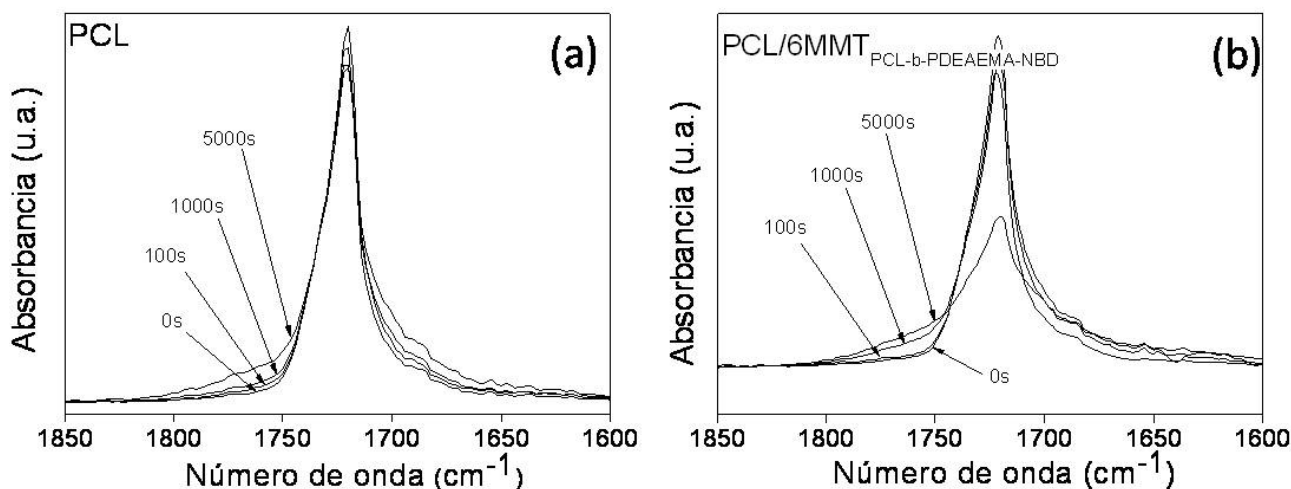
de la humectabilidad. Mediante XPS han sido analizadas las modificaciones producidas en PCL tratada con plasma y se observó un incremento de enlaces C=O respecto a los enlaces C-O con el tiempo de tratamiento, que aumenta la humectabilidad debido al mayor carácter hidrofílico. El porcentaje de enlaces C=O fluctuaba de manera similar al ángulo de contacto, estableciendo que la relación de enlaces C-O/C=O combinada con el efecto de rugosidad, eran los principales factores responsables del cambio en el ángulo de contacto,<sup>183</sup> estando de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo. Los materiales nanocompuestos con arcilla modificada proporcionan un mayor aumento de la rugosidad con el tratamiento con plasma y disminución del ángulo de contacto.

Como se ha observado por SEM, el plasma de oxígeno eliminó la materia orgánica de las muestras, dejando partículas de MMT en la superficie. Al aumentar el tiempo de tratamiento y la concentración de carga, la cantidad de partículas de arcilla aumentó drásticamente.

#### 4.II.2.2 Caracterización química.

##### 4.II.2.2.1 Espectroscopía Infrarroja (ATR-FTIR).

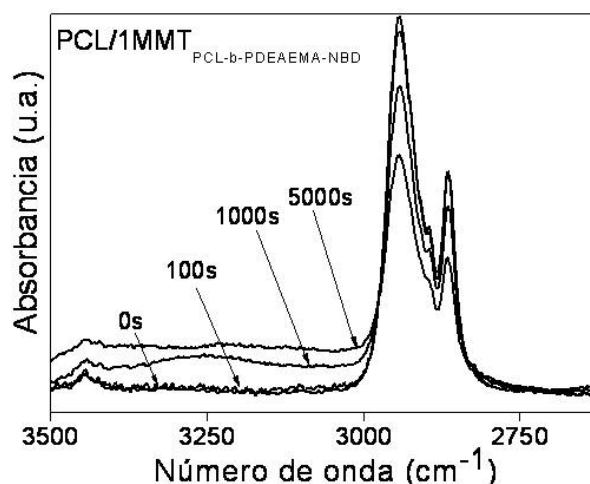
El ATR-FTIR es una herramienta muy útil para la caracterización de la composición química de las superficies de los materiales. Los espectros de FTIR de todas las muestras fueron registrados inicialmente y después de distintos tiempos de tratamientos con plasma. Se pueden apreciar algunas evidencias de modificación química producidas por el tratamiento. En la **Figura 4.29a**, se observa la banda entre 1600 y 1800 cm<sup>-1</sup> correspondiente al grupo carbonilo de la PCL que experimentó un ensanchamiento con el tiempo de tratamiento con plasma. Esto se ha atribuido a la formación de enlaces C=O que se generan en los polímeros durante procesos de oxidación.<sup>153, 173, 178, 184</sup> La **Figura 4.29b** representa el ensanchamiento de la señal atribuido a grupos carbonilo del material PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> como función del periodo de tratamiento de plasma. La intensidad de las señales correspondientes a la PCL disminuye debido a los procesos de ablación, predominando el contenido de arcilla en la superficie de los materiales. La presencia de la arcilla afectó a los procesos de oxidación, de tal manera que aquellos materiales con mayor concentración de arcilla mostraron ser menos susceptibles a la modificación química.



**Figura 4.29.** Evolución de la señal correspondiente al grupo carbonilo en función del tiempo de exposición al plasma oxidante para PCL (a) y PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> (b).

Después de la modificación con plasma aparece una banda entre 3000 y 3500  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a las vibraciones de tensión de los grupos hidroxilo producidos en el proceso de oxidación.<sup>178</sup> Como se puede observar en la **Figura 4.30**, la intensidad de estas señales aumenta con los periodos de exposición, se muestra como ejemplo representativo la muestra PCL/1MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub>.

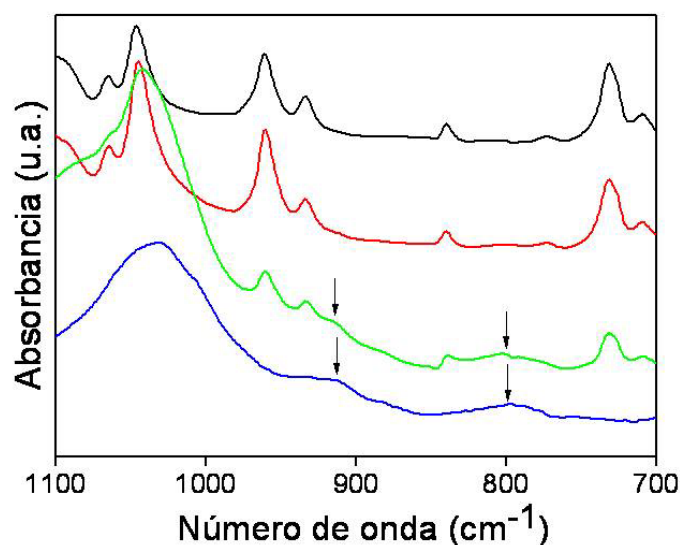
La montmorillonita natural presenta varias señales de absorción características, la más intensa es la banda de absorción de tensión Si-O centrada en 1031  $\text{cm}^{-1}$ ,<sup>185</sup> tres señales más débiles a 915, 880 y 845  $\text{cm}^{-1}$  que son los modos vibracionales de los grupos hidroxilo asociados a dos cationes en las capas octaédricas, y un pico en 798  $\text{cm}^{-1}$  cuyo origen ha sido motivo de controversia.<sup>185-186</sup>



**Figura 4.30.** Evolución de la señal correspondiente a los peróxidos formados durante la exposición al plasma oxidante, en la muestra  $\text{PCL/1MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ .

La **Figura 4.31** muestra el espectro de ATR de la PCL sin carga, la MMT natural, la muestra  $\text{PCL/6MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$  sin haber sido tratada con plasma, y tras 5000 s de exposición al plasma en la región entre  $700$  y  $1300\text{ cm}^{-1}$ . Las señales de los materiales cargados no expuestos al plasma no mostraron ninguna señal de la MMT, pero tras 5000 s de tratamiento con plasma, la banda de la PCL situada entre  $1000$  y  $1100\text{ cm}^{-1}$  experimentó un ensanchamiento evidente, y aparecieron dos hombros a  $915$  y  $798\text{ cm}^{-1}$ , que se atribuye a la presencia de mayor concentración de arcilla en las superficies de los materiales, tal y como se pudo observar en las imágenes de SEM. La mejora en la compatibilización y dispersión de la arcilla en la matriz se reflejó en una mayor contribución de la MMT al espectro de FTIR cuando la PCL es eliminada mediante el proceso de ablación.





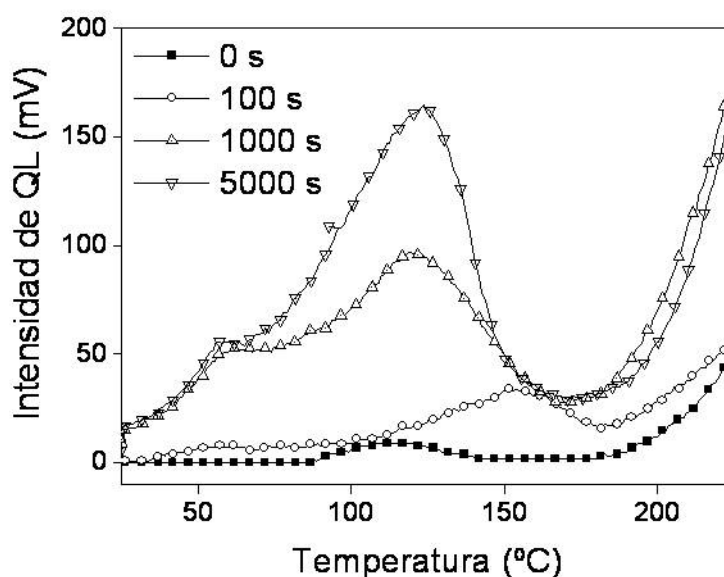
**Figura 4.31.** Espectros de ATR-FTIR de las muestras PCL (—), PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> (—), PCL/6MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> tras 5000 s de tratamiento con plasma (—) y MMT-k10 (—).

#### 4.II.2.2.2 Análisis de emisión de quimioluminiscencia (QL).

Durante la modificación con plasma de oxígeno, los materiales polímeros experimentan formación de especies de oxidación en sus superficies, tal y como se ha puesto de manifiesto mediante el análisis por ATR-FTIR. El análisis de emisión de QL es una técnica muy adecuada para caracterizar especies de degradación y mecanismos de oxidación,<sup>93, 167</sup> y ha sido previamente utilizada para caracterizar procesos de degradación de la PCL en fluidos biológicos.<sup>96</sup>

Tal y como se ha discutido anteriormente, la emisión de QL está directamente relacionada con la concentración de especies de oxidación generadas en un material. Mediante análisis dinámico de QL bajo atmósfera de nitrógeno, es posible evaluar el contenido de este tipo de especies generadas durante la exposición al plasma.

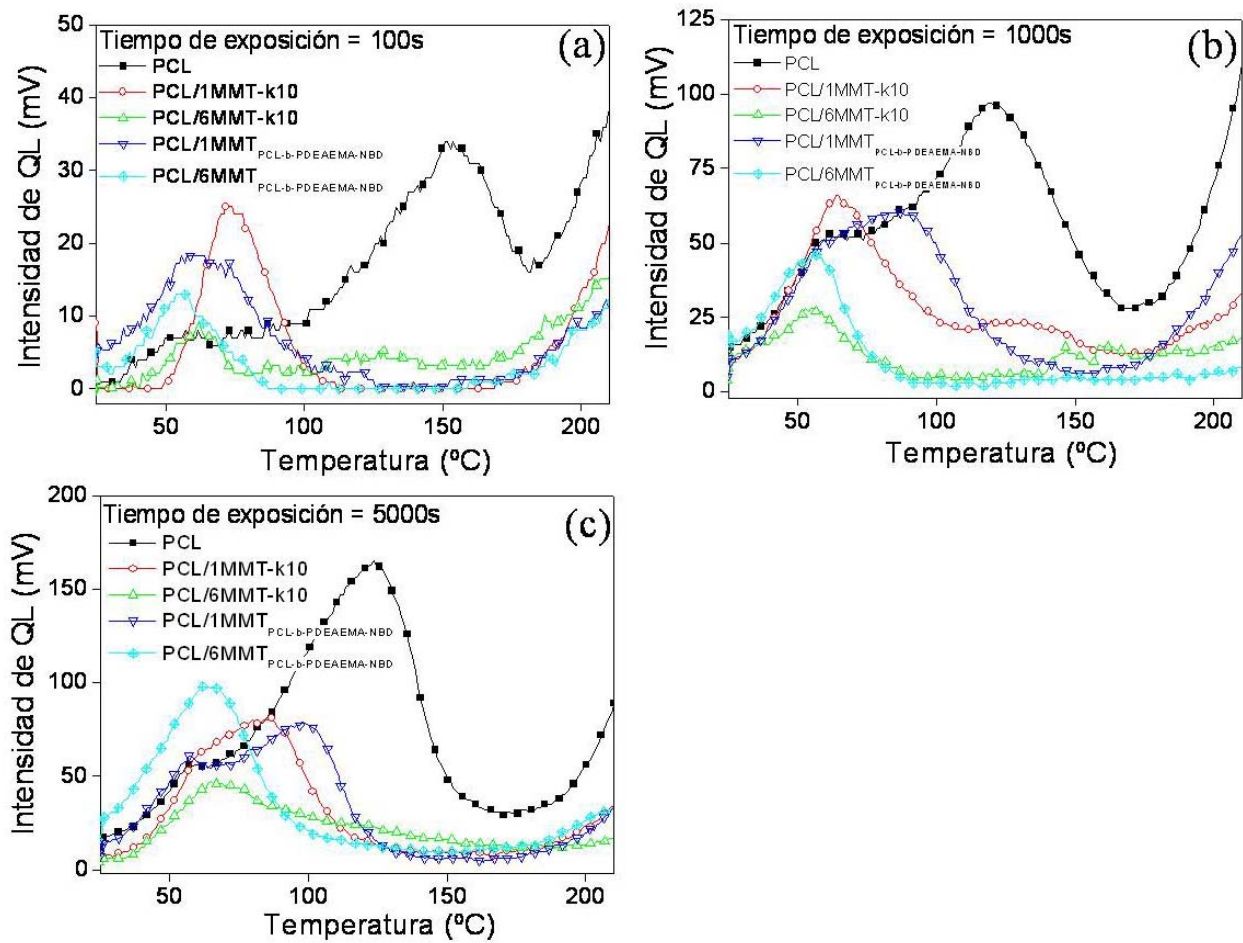
La **Figura 4.32** muestra la emisión de QL de la PCL antes y después de distintos periodos de exposición al plasma. La PCL inicialmente no mostró una intensidad de QL significativa, debido a la baja concentración inicial de especies de oxidación en su superficie. Sin embargo, se observa un aumento de la intensidad de QL con el tiempo de tratamiento debido a la formación de especies de oxidación.



**Figura 4.32.** Evolución de la señal de emisión de QL de la PCL en función del tiempo de exposición.

Se observaron dos señales en la muestra no cargada PCL, una alrededor de 60 °C, la temperatura de fusión del material, y la otra entre 100 y 150 °C atribuidos a la presencia de especies de oxidación de distinta estabilidad. A temperaturas por encima de la temperatura de fusión, la movilidad de los radicales peroxilo, está favorecida y se produce la reacción bimolecular que da lugar a especies carbonilo en estado excitado que al desactivarse dan emisión de QL.<sup>96</sup>

La **Figura 4.33** muestra la intensidad de emisión de QL de las cinco muestras analizadas, a distintos tiempos de tratamiento con plasma. En todos los casos, la emisión de QL incrementó con el tiempo de exposición. Todos los materiales nanocompuestos mostraron un máximo de emisión de QL alrededor de la temperatura de fusión de la matriz, y la señal situada alrededor de 125 °C disminuyó o incluso desapareció. En el caso de la PCL, la intensidad de emisión fue la más alta en todos los casos, comparado con el resto de los materiales con carga, para un tiempo de exposición determinado.



**Figura 4.33.** Emisión de QL de todas las muestras después de diferentes tratamientos de plasma: 100 s (a), 1000 s (b) y 5000 s (c).

Estos resultados pueden ser atribuidos a dos factores; por un lado la emisión de QL de una material polímero está relacionada con la resistencia frente a procesos de oxidación, tales como el plasma, y como ha sido previamente expuesto, se asume que la incorporación de carga induce un aumento en la estabilidad de los materiales. Por otro lado, tal y como se ha manifestado por SEM y ATR-FTIR, la ablación por plasma de las superficies estudiadas, genera una capa de arcilla en la superficie con una concentración de PCL más baja, responsable de la emisión.

## **CAPÍTULO 5**



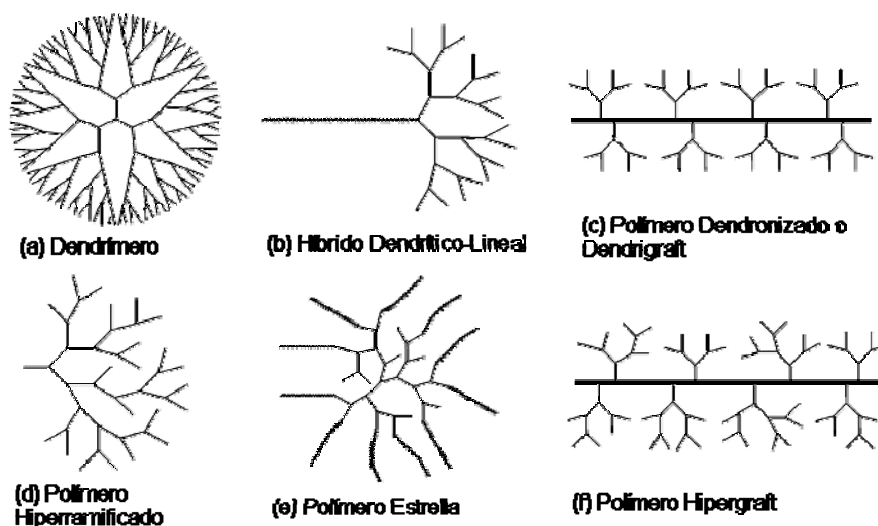
## MATERIALES NANOCOMPUESTOS HEMA-PEGDMA/MMT-HBP.

### 5.1 Introducción.

#### 5.1.1 Polímeros hiperramificados. Características, propiedades y aplicaciones.

Durante los últimos 15 años, los polímeros hiperramificados (HBPs) han recibido gran atención debido a sus peculiares propiedades físicas y químicas, así como sus aplicaciones potenciales en el campo de los recubrimientos, aditivos, liberación controlada de fármacos, nanotecnología y química supramolecular.<sup>187-188</sup>

Los polímeros dendríticos (**Figura 5.1**) son macromoléculas altamente ramificadas con arquitectura tridimensional que pueden dividirse en seis subclases:<sup>189</sup> (a) dendrones y dendrímeros; (b) híbridos dendrítico-lineales; (c) polímeros dendronizados o *dendrigrfts*; (d) polímeros hiperramificados; (e) polímeros estrella y (f) polímeros *hypergrfts*. Los tres primeros son estructuras perfectas con ramificación uniforme, mientras los otros tres presentan una estructura ramificada aleatoria.



**Figura 5.1.** Clasificación de polímeros dendríticos.<sup>189</sup>

Los dendrímeros resultan muy atractivos por su estructura perfecta y su masa molar exacta, así como por su capacidad para imitar moléculas complejas que se encuentran en la naturaleza, pero la síntesis sin defectos de dendrímeros de alta generación resulta

larga y tediosa. Por otro lado, la síntesis de polímeros hiperramificados, no es trivial pero si accesible, aunque la caracterización total de estas estructuras altamente irregulares y complejas es todo un desafío.

Los polímeros hiperramificados frente a sus homólogos lineales poseen mejor solubilidad y menor viscosidad debido al alto grado de ramificación y la estructura molecular de mayor densidad, y son capaces de albergar moléculas durante las transferencias de fase, funcionando como nanocontenedores. El mayor problema para entender el efecto de la alta ramificación es la ausencia de análogos lineales apropiados para comparar. Estas propiedades vienen determinadas inicialmente por la estructura de la unidad en repetición y por la naturaleza de los grupos terminales resultantes y en combinación con la posibilidad de una síntesis más sencilla en un solo paso, son las razones por las que la industria ha mostrado un mayor interés en el desarrollo de los polímeros hiperramificados.

Las propiedades principales de los polímeros lineales vienen determinadas por los enmarañamientos al azar de la cadena macromolecular y la presencia o ausencia de grupos funcionales unidos a la cadena principal. En contraste con esto, las características de los polímeros hiperramificados vienen dadas por: (a) la arquitectura macromolecular, (b) el número de grupos finales dentro de la molécula, (c) las interacciones moleculares resultantes.

Los dendrímeros, por encima de cierta generación, tienden a adoptar una estructura globular, densamente empaquetada, tanto en disolución como en estado sólido. Los polímeros hiperramificados, exhiben propiedades similares a los polímeros lineales convencionales, como son: la distribución de pesos moleculares, la isomería óptica y geométrica y sus reactividades; y se comportan de forma similar a los dendrímeros en cuanto a su baja viscosidad y su alta solubilidad. En la **Tabla 5.1** se muestra la comparación cualitativa de propiedades.<sup>190</sup>

**Tabla 5.1.** Propiedades de los HBPs frente a los dendrímeros y los polímeros lineales.

Propiedad	Polímero Lineal	Polímero Hiperramificado	Dendrímero
Forma	Ovillo al azar	Globular	Esférica*
Viscosidad en fundido	Alta	Baja	Baja
Viscosidad intrínseca	Alta	Moderada	Baja
Solubilidad	Baja	Alta	Alta
Cristalinidad	Alta	No	No
Reactividad	Baja	Media-alta	Alta
Control estructural	Bajo	Moderado	Muy alto
Compresibilidad	Alta	Baja	Baja

\* Sólo a generaciones altas (> 5 dependiendo de la estructura).

Uno de los aspectos más característicos de los polímeros dendríticos es que las propiedades dependen más de la longitud de cadena entre los puntos de ramificación que del peso molecular total.<sup>191-192</sup> Independientemente del peso molecular, un polímero hiperramificado, se comporta como un polímero de bajo peso molecular, ya que la longitud de cadena entre puntos de ramificación es menor que el peso molecular crítico para crear ovillos en la cadena. Así, propiedades físico-químicas tales como viscosidad, solubilidad y reactividad son dependientes de la arquitectura macromolecular.

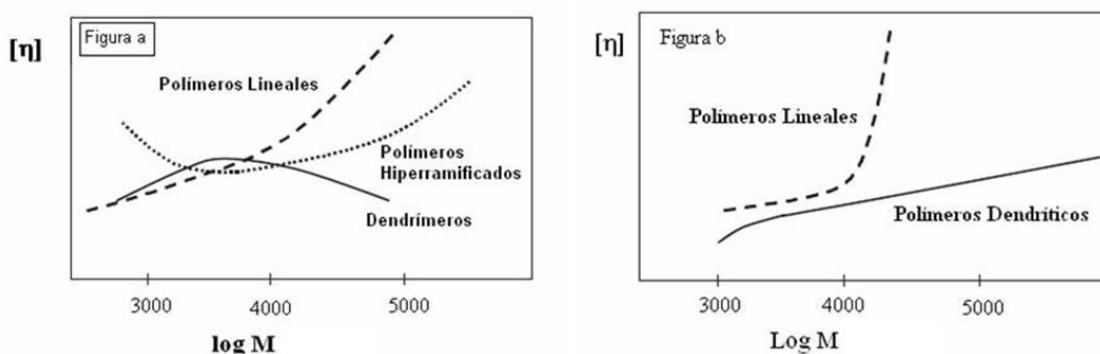
Debido a su estructura altamente ramificada, los polímeros dendríticos son materiales casi exclusivamente amorfos. La temperatura de transición vítrea es una de las propiedades térmicas donde la diferencia con los polímeros convencionales es más importante. Diversos estudios demuestran<sup>192-193</sup> que las transiciones térmicas, como la  $T_g$  son casi independientes de la arquitectura y del peso molecular y, sin embargo, está fuertemente afectada por la naturaleza de los grupos funcionales finales.<sup>194</sup> Dada la fuerte dependencia que tiene la  $T_g$  con el número y estructura de los grupos terminales, obviamente en estos polímeros, esta transición no representa sólo la flexibilidad y el volumen libre de la unidad repetitiva, sino también las fuertes interacciones entre los grupos polares terminales.

La particular topología de los polímeros hiperramificados y dendrímeros da lugar a un comportamiento viscoelástico muy diferente al de los conocidos polímeros lineales. Su



baja viscosidad y alta solubilidad se deben a la alta compactación molecular y, su alta reactividad es debida al gran número de grupos funcionales disponibles en la superficie molecular.

En la **Figura 5.2** se muestran las gráficas de la viscosidad intrínseca (**Figura 5.2a**) y la viscosidad en fundido (**Figura 5.2b**) en función del peso molecular en unidades de masa atómica, mostrando la diferencia de comportamiento entre los dendrímeros, y los polímeros lineales e hiperramificados que siguen la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada. En la **Figura 5.2b** se observa el extraordinario aumento de viscosidad en fundido a partir de un peso molecular crítico en el caso de los polímeros lineales, mientras que los polímeros dendríticos muestran, en este caso, una pendiente continua sin límite de peso molecular crítico observado.



**Figura 5.2.** Viscosidad intrínseca (a) y en fundido (b) de dendrímeros, polímeros hiperramificados y polímeros lineales en función de peso molecular.

Como se ha visto, la configuración tanto de dendrímeros como de polímeros hiperramificados se caracteriza por una ausencia de enmarañamientos de cadena, lo cual provoca una viscosidad y cristalinidad más bajas que en los polímeros lineales del mismo peso molecular. Por esta razón, los dendrímeros tienen comportamiento newtoniano en el estado fundido. El grado de ramificación influye en la viscosidad en fundido, que conduce a una mejora en la procesabilidad, en ausencia de aditivos. Por eso, los polímeros hiperramificados se han descrito como modificadores reológicos.<sup>195-</sup>

196

El alto grado de ramificación tanto en los dendrímeros como los polímeros hiperramificados restringe el enmarañamiento de cadenas y las propiedades mecánicas

resultantes son a menudo inferiores a sus análogos lineales.<sup>197</sup> Por lo tanto su uso se restringe a aplicaciones donde la resistencia mecánica no es un requisito para obtener buenas prestaciones. Para evitar la fragilidad, sin sacrificar su estructura globular altamente funcionalizada se han desarrollado varios métodos.<sup>198</sup>

Frente a la belleza desde el punto de vista topológico y estructural de los dendrímeros, los polímeros hiperramificados se han convertido en una alternativa real a éstos, ya que son más fáciles de sintetizar a escala industrial y presentan propiedades intermedias entre las de los dendrímeros y las de los polímeros lineales. Estos polímeros hiperramificados se parecen a los dendrímeros en cuanto a la ausencia de ovillamiento, baja viscosidad en estado fundido y alta solubilidad; mientras que, tanto la viscosidad intrínseca como la reactividad, recuerdan a los polímeros lineales.

La combinación entre la estructura altamente ramificada y la alta funcionalidad en un entorno restringido favorece su uso en recubrimientos y resinas, así como en películas delgadas funcionales (por ejemplo sensores). Más aún, la modificación de los grupos funcionales permite optimizar sus propiedades (reología, propiedades ópticas, biocompatibilidad, etc.) para aplicaciones específicas en el área de la nanotecnología, microelectrónica, tecnología de la información, óptica, y medicina. Existen numerosos ejemplos de aplicación de los polímeros hiperramificados: óptica y optoelectrónica: preparación de materiales emisores de luz,<sup>199</sup> electrolitos poliméricos,<sup>200</sup> nanotecnología: para nanoencapsulación,<sup>201</sup> fabricación de híbridos orgánicos-inorgánicos, compatibilización y dispersantes de nanofibras y nanotubos de carbono en materiales compuestos,<sup>202</sup> química supramolecular: como nuevos bloques de construcción, en diversos procesos de auto-ensamblaje,<sup>203</sup> procesos de separación: membranas para purificación de gases, y separación de mezclas azeotrópicas de etanol-agua,<sup>204</sup> catálisis.<sup>205</sup>

### **5.1.2 Materiales nanocompuestos formados por silicatos laminares y polímeros hiperramificados.**

Existen en la bibliografía trabajos en los que se describe la preparación de materiales nanocompuestos con silicatos laminares y polímeros hiperramificados de diferente naturaleza: la modificación de bentonita con polietilenimina,<sup>206</sup> montmorillonita y

laponita con poliamidoaminas alifáticas,<sup>36</sup> mica y montmorillonita con poliaminas,<sup>37-38</sup> etc.

Månson *et al.*<sup>41</sup> y Hult *et al.*<sup>40, 207</sup> utilizaron el poliéster hiperramificado Boltorn® H30 para la preparación de nanocomposites con MMT natural. Este polímero hiperramificado posee una alta densidad de grupos hidrofílicos en la periferia pero un núcleo con menor afinidad por la arcilla. Debido a la solvatación de los cationes internos de la MMT por los grupos polares de tipo hidroxilo, un polímero hiperramificado de este tipo es capaz de intercalarse en la zona interlaminar facilitando la exfoliación del mineral.

La presencia de gran densidad de grupos funcionalizables en la periferia de este polímero hizo posible la incorporación de grupos acrílicos fotopolimerizables, que permite la preparación de nanocomposites entrecruzados Boltorn® H30/MMT vía fotopolimerización.<sup>40</sup> En este trabajo se describe el efecto de la MMT en la morfología de los nanocomposites fotopolimerizados, observando que a pesar de que la presencia de arcilla impedía una reacción homogénea, se alcanzaba un alto grado de exfoliación.

En el trabajo de Amin y colaboradores<sup>36</sup> se preparó una poliamidoamina alifática con grupos amino en la periferia que se cuaternizaron y posteriormente se llevó a cabo el intercambio catiónico en la superficie de montmorillonita. De esta forma obtuvieron un incremento en el espaciado interlaminar, llegando incluso al grado de exfoliación cuando la concentración de MMT era del 4% en el nanocomposite.

En los ejemplos previamente citados se lleva a cabo la intercalación de polímeros hiperramificados en la zona interlaminar de los silicatos, no obstante no se ha llevado a cabo la incorporación de estas arcillas modificadas en matrices poliméricas para la preparación de nanocomposites.

En este trabajo se han utilizado las características únicas que los polímeros hiperramificados ofrecen y se han funcionalizado con grupos amonio cuaternario que puedan intercambiarse por los cationes metálicos de la MMT. Las arcillas modificadas con los HBP se han utilizado para la preparación de nanocomposites por irradiación UV, a los que confieren actividad antibacteriana, al estar localizados en la interfase matriz polimérica/arcilla.

### 5.1.3 Fotopolimerización UV.

El proceso de fotopolimerización o fotocurado UV induce la reacción de polimerización de monómeros y/u oligómeros reactivos, mediante la generación de radicales o cationes, que inician la reacción de fotopolimerización, a partir de la interacción de la luz con un fotoiniciador. La tecnología de curado por UV supone una serie de ventajas:<sup>208-209</sup> 1) no requiere el uso de temperaturas elevadas; lo que supone ahorro energético y puede utilizarse para determinados materiales que no pueden calentarse, evitando su degradación, 2) rapidez de curado que permite una elevada productividad, 3) facilidad de aplicación y procesado, se elimina el uso de disolventes orgánicos volátiles, 4) control temporal y espacial del proceso.

La reacción de polimerización fotoiniciada o fotopolimerización radical se caracteriza porque la etapa de iniciación es una reacción fotoquímica, en la que se forman radicales a partir de la especie que absorbe luz, el fotoiniciador. El sistema fotoiniciador mas simple es aquel en que la molécula que absorbe luz produce la iniciación, este es el caso de los fotoiniciadores que actúan por fragmentación. Sin embargo, en otros sistemas interviene una segunda molécula, en este caso el sistema iniciador consta de dos especies: fotoiniciador que absorbe luz y su estado excitado reacciona con el coiniciador, que no absorbe luz pero interviene de forma directa en la iniciación, por ejemplo transfiriendo hidrógeno a la especie excitada.

El fotoiniciador juega un papel esencial en el proceso de fotocurado y debe cumplir unas especificaciones, tanto para optimizar el proceso de fotocurado como para no interferir en las propiedades deseadas para el material obtenido. Las principales características de un fotoiniciador deben ser: (i) que presente un coeficiente de extinción molar adecuado en la zona de interés para la fotopolimerización; (ii) que el rendimiento cuántico de fotoiniciación, definido como el número de cadenas de polímero iniciadas por fotón absorbido, sea cercano a la unidad; (iii) que ni la molécula de fotoiniciador ni sus productos de reacción produzcan reacciones de terminación o transferencia de cadena y; (iv) que sea soluble, térmicamente estable, barato, incoloro, no tóxico y que no sufra migración a la superficie del material curado.

Las reacciones de fotopolimerización se desarrollan en tres etapas fundamentales: 1) Fotoiniciación, etapa en la que, por irradiación del fotoiniciador, se generan radicales. Estos reaccionan con la primera molécula de monómero para dar lugar a los radicales

primarios, 2) Propagación, etapa que consiste en el ataque de los radicales primarios al doble enlace de un monómero, generándose un nuevo radical en el extremo de la cadena en crecimiento, que continuará adicionando moléculas de monómero sucesivamente, y 3) Terminación, los macrorradicales en propagación reaccionan con otros radicales, bien sea por combinación o desproporción, dando lugar a cadenas de polímero terminadas (no reactivas).

Cuando la reacción de polimerización se realiza en condiciones de concentración elevada de monómero, se presenta el denominado efecto gel, o autoaceleración, caracterizado por un aumento pronunciado de la velocidad de polimerización y del peso molecular del polímero obtenido a partir de un determinado grado de conversión. Este efecto es particularmente pronunciado en acrilatos y metacrilatos, independientemente del tipo de iniciador. Se debe a que el aumento de viscosidad que se produce a medida que transcurre la reacción ocasiona la disminución de la velocidad de difusión de los macrorradicales. Esto disminuye la posibilidad de que dos cadenas radicales de elevado peso molecular se aproximen entre sí y terminen la reacción, lo que produce una disminución de la constante de velocidad de terminación. La disminución de la velocidad de terminación da lugar a un incremento total de la velocidad de polimerización y del peso molecular, ya que el tiempo de vida de las cadenas en crecimiento aumenta.

Las numerosas ventajas que presenta la tecnología de curado mediante irradiación UV, hacen de ella una propuesta de gran interés para la preparación de materiales nanocompuestos de forma sencilla y con mínimo coste de desarrollo y tecnología de procesado. Los materiales nanocompuestos fotocurables combinan las ventajas del proceso de curado UV y la nanotecnología y, por tanto, imparte al material propiedades únicas.<sup>210</sup> En los últimos años, los procesos de fotocurado se han empleado para la preparación de nanocompuestos.<sup>172, 211-213</sup> El trabajo pionero utilizando el fotocurado para la preparación de materiales nanocompuestos con arcillas fue realizado por Decker y colaboradores.<sup>214-215</sup> Shemper y colaboradores<sup>216</sup> han estudiado el efecto de diferentes arcillas en la cinética de polimerización y en la conversión de un material acrílico basado en  $\alpha$ -hidroximetacrilato con nuevos agentes entrecruzantes. Uhl y colaboradores,<sup>217-218</sup> han demostrado que en presencia de arcillas se reduce el tiempo de curado de filmes basados en uretano-acrilatos.

Más recientemente Guymon y colaboradores han publicado trabajos en los que la modificación de las arcillas se lleva a cabo con surfactantes polimerizables, con grupos acrilato o tiol.<sup>28, 33, 228</sup> En estos trabajos estudian el efecto de la afinidad química entre el/los monómero/s y el surfactante, factor clave en la dispersión de la organo-arcilla en el monómero. Cuando se utilizaban arcillas modificadas con surfactantes polimerizables, la velocidad de reacción era mayor, que cuando utilizaban sus análogos no polimerizables, y las conversiones obtenidas eran superiores. El incremento en la velocidad de reacción se atribuye a una disminución de la constante de terminación, inducida por dobles enlaces y radicales inmovilizados en las superficies de los silicatos.

La fotopolimerización in situ ha demostrado ser un método efectivo para la preparación de materiales bionanocompuestos. Así, por ejemplo, se han distribuido homogéneamente agujas de hidroxiapatita en una red entrecruzada de poli(anhídrido).<sup>219</sup>

Aunque los estudios de la cinética de fotopolimerización UV de monómeros mono- y multifuncionales, así como de resinas comerciales, ha sido ampliamente abordada en el pasado; todavía existen pocos estudios acerca de la cinética de fotocurado de materiales nanocompuestos. El estudio de la cinética de polimerización tiene gran importancia para comprender la microestructura de los materiales nanocompuestos y sus propiedades finales. Se han descrito diversas técnicas que se han empleado con cierto éxito en el seguimiento de la reacción de polimerización, incluso en la misma línea de producción.<sup>220</sup> Entre ellas cabe citar, densimetría, dilatometría, medida de índices de refracción y de ultrasonidos, cromatografía de gases, análisis mecano-dinámico, calorimetría y espectroscopía UV, IR, Raman y de fluorescencia. Sin duda, las más utilizadas han sido la calorimetría diferencial de barrido<sup>221-223</sup> (DSC) y la espectroscopía infrarroja.<sup>224-225</sup>

En todo proceso de polimerización, y muy especialmente en la polimerización radical en cadena, el calor producido en la reacción puede relacionarse en cada momento con la conversión del monómero en polímero. La calorimetría diferencial de barrido, DSC, es un método térmico de análisis que básicamente mide la velocidad de desprendimiento de calor producido, así como el calor total generado en una reacción química dada. A partir de la correspondiente curva conversión-tiempo de irradiación se determina la conversión final,  $\alpha$ , definida como el grado de curado cuando la polimerización alcanza la zona de plateau. La velocidad de polimerización máxima y el tiempo al que aparece

dicho máximo se determinan a partir de la 1ª derivada de la curva frente al tiempo ( $d\alpha/dt$  vs  $t$ ).

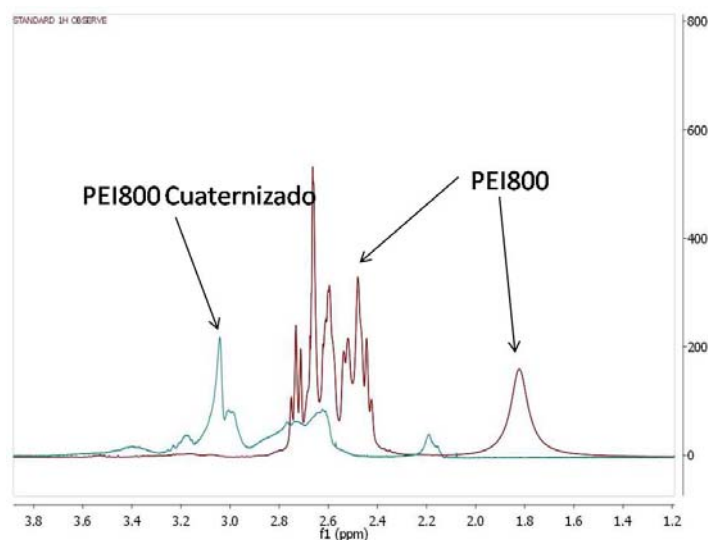
## 5.2 Resultados y discusión.

En este capítulo se han preparado materiales nanocompuestos mediante fotocurado de monómeros acrílicos en presencia de arcilla. Para ello se ha llevado a cabo la modificación de montmorillonita con polímeros hiperramificados, y se ha estudiado la influencia de la organo-modificación en las reacciones de fotopolimerización y en las propiedades térmicas de los nanocompuestos.<sup>224</sup> El objetivo del trabajo es el desarrollo de nuevas estrategias para modificar arcilla, que mejoren las interacciones entre el polímero y el refuerzo, y contribuyan a la preparación de nuevos materiales con actividad antimicrobiana.

### 5.2.1 Preparación de los materiales nanocompuestos.

#### 5.2.1.1 Cuaternización de los HBP.

Para la modificación de la montmorillonita se han seleccionado tres polímeros hiperramificados basados en polietilenimina (PEI800 y PEI25000) y una poliésteramida alifática (Hybrane<sup>®</sup> 1690). Mediante la reacción con  $\text{CH}_3\text{I}$  se han funcionalizado con grupos amonio cuaternario, siguiendo el procedimiento detallado en el apartado **3.3.2.1** de la **Parte Experimental**. La cuaternización de los HBP ha sido analizada por  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{CDCl}_3$ . En la **Figura 5** se muestra como ejemplo el espectro del HBP PEI800 inicial, y después de la reacción con  $\text{CH}_3\text{I}$ .



**Figura 5.4.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del PEI800 antes y después de la reacción con  $\text{CH}_3\text{I}$ .

En el espectro inicial se observa un singlete ancho centrado en 1.8 ppm que corresponde a los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de nitrógeno y un multiplete entre 2.4 y 2.8 ppm que corresponde a los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono. Después de la reacción con  $\text{CH}_3\text{I}$  aparece un nuevo multiplete entre 2.93 y 3.83 ppm, que corresponde a los átomos de hidrógeno de los grupos metilo correspondientes al grupo amonio cuaternario.

En los polímeros PEI25000 y HA1690 se encontraron resultados similares, los protones unidos a las aminas se encontraron en forma de multiplete centrado en 1.8 ppm y 2.2 ppm respectivamente, y las señales de los protones unidos a los metilos de los nitrógenos cuaternizados se encontraron en forma de multipletes entre 2.86 y 3.62 ppm para PEI25000Q y 3.14 y 3.8 ppm para HA1690Q.

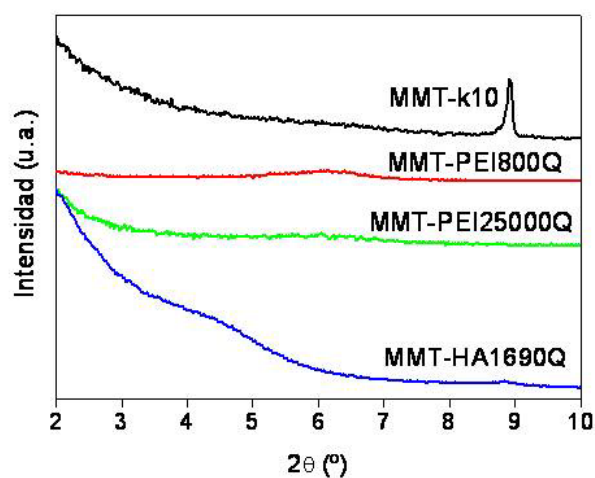
#### 5.2.1.2 Modificación de la arcilla con HBP cuaternizados.

La modificación de la MMT-k10 con los tres HBP cuaternizados fue llevada a cabo como se describe en el apartado 3.3.2.2 de la **Parte Experimental**, obteniendo las montmorillonitas organo-modificadas MMT-PEI800Q, MMT-PEI25000Q y MMT-HA1690Q.



La intercalación de los HBP cuaternizados en la MMT-k10 fue estudiada mediante difracción de RX y análisis termogravimétrico. En la **Figura 5.5** se muestran los difractogramas de la arcilla sin modificar MMT-k10 y de las tres arcillas organomodificadas. La arcilla natural presenta un pico de reflexión a  $8.9^\circ$  que corresponde a una distancia basal,  $d_{001}$ , de 1 nm. Después de la reacción de intercambio catiónico con los surfactantes poliméricos, se observó un incremento en el espaciado interlaminar en las arcillas modificadas, lo cual indica una intercalación de los HBP entre las láminas de arcilla. El tamaño de los surfactantes no tuvo un gran efecto en el aumento del espaciado interlaminar, como ha sido observado previamente en la modificación de MMT-k10 con poliésteres catiónicos donde se encontró que el tamaño de la cadena tenía menor efecto que el tamaño de los sustituyentes del átomo de nitrógeno en el espaciado interlaminar.<sup>226</sup>

Las arcillas modificadas con las polietileniminas cuaternizadas, MMT-PEI800Q y MMT-PEI25000Q mostraron un espaciado basal de 1.45 nm, como fruto de la modificación, lo cual indica que el incremento es independiente del peso molecular del surfactante. Se encontró mayor efecto producido por la estructura química del surfactante, ya que la arcilla modificada con la poliésteramida alifática, MMT-HA1690Q, presentó una distancia basal de 1.74 nm. En general se observó un ensanchamiento del pico de reflexión [001] en el caso de las arcillas organomodificadas, con respecto a la arcilla comercial, como se ha comentado previamente en el apartado 4.1.2.2.



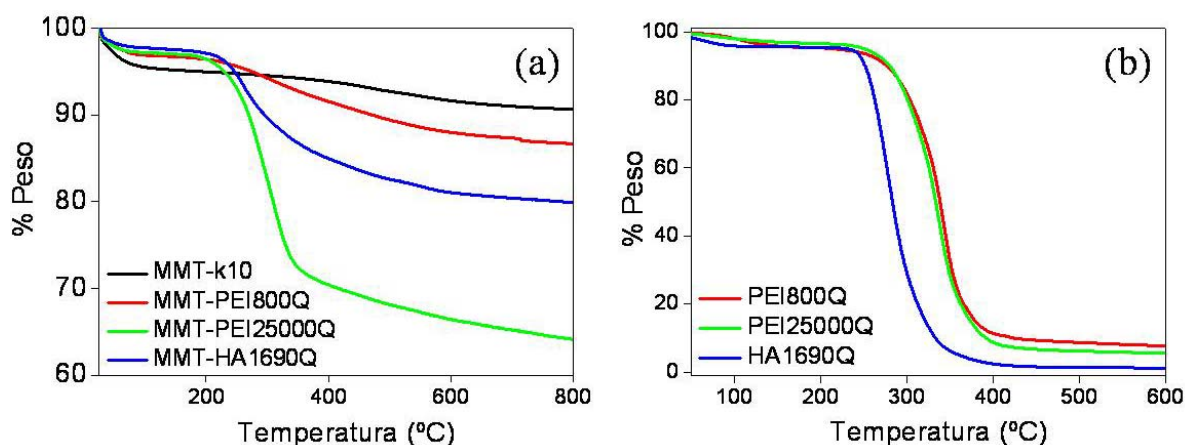
**Figura 5.5.** Difractogramas de las arcillas MMT-k10, MMT-PEI800Q, MMT-PEI25000Q y MMT-HA1690Q.

Las curvas de pérdida de peso en función de la temperatura bajo atmósfera de nitrógeno, de la arcilla MMT-k10 y las arcillas organo-modificadas MMT-PEI800Q, MMT-PEI25000Q y MMT-HA1690Q se muestran en la **Figura 5.6a**. MMT-k10 mostraba una alta estabilidad térmica y se observa una pérdida de peso total del 9%, debido al agua físicamente adsorbida en la arcilla.

En el caso de las arcillas modificadas la pérdida de peso por debajo de 200 °C es significativamente inferior, indicando un menor contenido de agua debido a una menor hidrofiliicidad de las arcillas. Cuando se eleva la temperatura hasta 800 °C se produce una pérdida de peso acusada por encima de 200 °C, lo cual indica la presencia de surfactantes orgánicos intercalados entre las láminas de los silicatos, ya que la descomposición térmica ocurre en el mismo rango de temperaturas que en los HBP, como se muestra en la **Figura 5.6b**.

El contenido de componentes orgánicos en las arcillas modificadas se determinó como la pérdida de peso en el intervalo de temperaturas entre 200 °C y 800 °C. A temperaturas por encima de 200 °C, la influencia del contenido de agua se elimina y se produce el proceso de descomposición de los organo-modificadores.

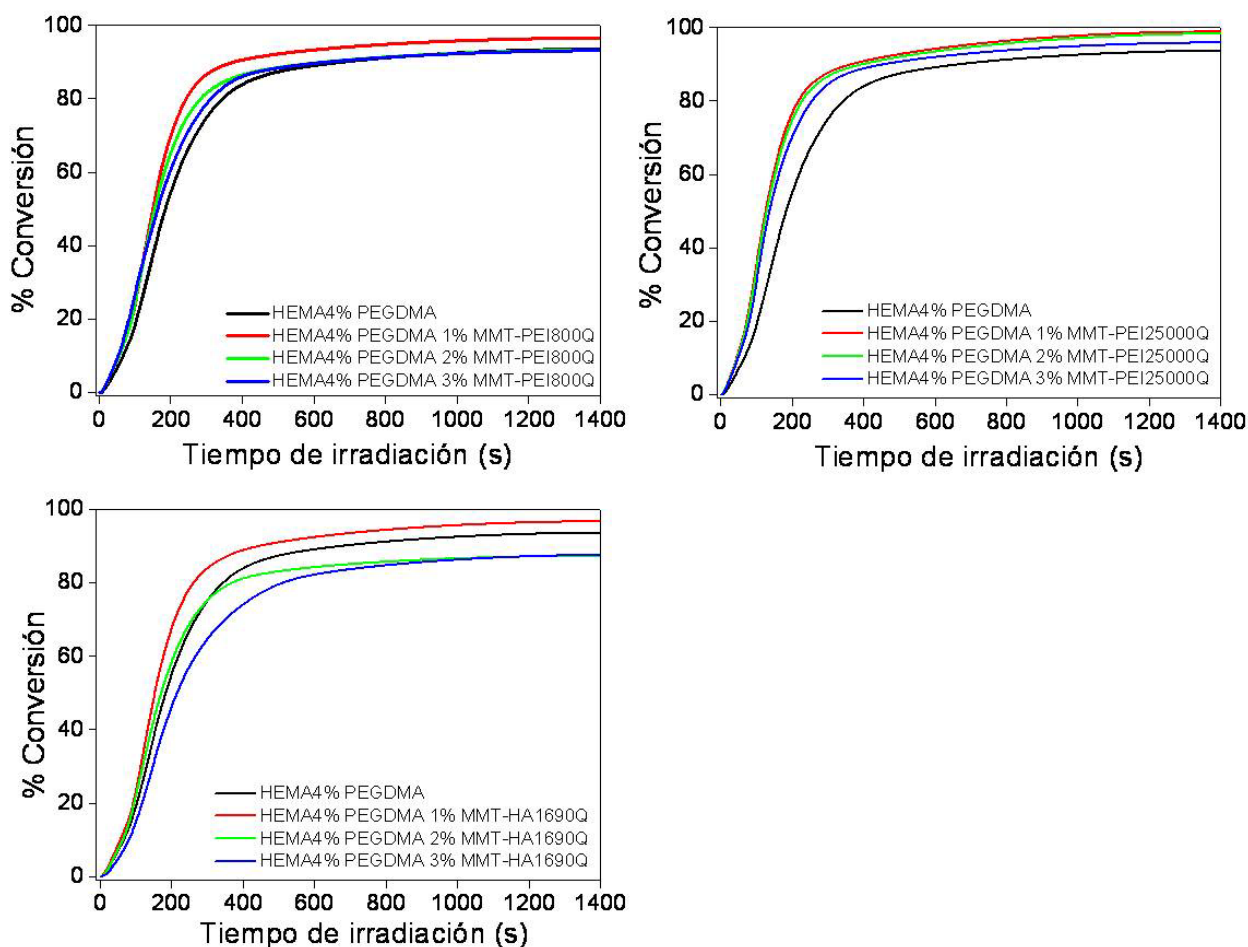
En estas condiciones, los valores de pérdida de peso de las arcillas modificadas fueron de 10%, 17% y 32% para MMT-PEI800Q, MMT-PEI25000Q y MMT-HA1690Q, respectivamente.



**Figura 5.6.** Curvas de pérdida de peso de la MMT-k10 y de las arcillas organo-modificadas (a) y de los HBP cuaternizados (b).

### 5.2.1.3 Fotopolimerización de los nanocomposites y caracterización de la morfología.

Las cinéticas de fotopolimerización del sistema HEMA4%PEGDMA utilizando como fotoiniciador Irgacure 819 y con distintos contenidos de las tres arcillas modificadas fueron estudiadas mediante fotocalorimetría diferencial de barrido. El procedimiento se detalla en el apartado 3.1.4.2 de la **Parte Experimental**. Las curvas de conversión en función del tiempo de irradiación para la mezcla HEMA4%PEGDMA y las formulaciones conteniendo 1, 2 y 3% en peso de cada una de las arcillas organo-modificadas se muestran en la **Figura 5.7**.



**Figura 5.7.** Curvas de conversión de los dobles enlaces vs. tiempo de irradiación de HEMA4%PEGDMA y de las formulaciones con 1, 2 y 3% en peso de cada una de las arcillas.

La velocidad de fotopolimerización máxima ( $R_p^{\text{máx}}$ ) y el grado de conversión final de los dobles enlaces ( $\alpha_F$ ) se determinaron con objeto de investigar el efecto de las arcillas organo-modificadas en el proceso de fotopolimerización, y se muestran en la **Tabla 5.2**.

Los perfiles cinéticos de las fotopolimerizaciones fueron convencionales, primero se da una etapa de autoaceleración, seguido por una ralentización del proceso, debido a que la  $T_g$  del sistema (103 °C) se encuentra muy por encima de la temperatura de polimerización (25 °C), y el sistema vitrifica, la movilidad de los radicales está más restringida, lo que conduce a una disminución de la constante de terminación ( $k_t$ ).

**Tabla 5.2.** Datos de las cinéticas de fotopolimerización de HEMA/PEGDMA en presencia de 1, 2 y 3% de las arcillas organo-modificadas con cada uno de los HBP cuaternizados. Temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) de los nanocompuestos determinadas por DSC.

HBP	% Peso	$\alpha_F$ (%)	$R_p^{max}$ (s <sup>-1</sup> )	$T_g$ (°C)
*	0	94	0.41	104
PEI800	1	97	0.54	98
	2	93	0.48	98
	3	93	0.42	104
PEI25000	1	99	0.59	97
	2	98	0.58	103
	3	96	0.59	105
HA1690	1	98	0.55	99
	2	87	0.43	95
	3	88	0.35	100

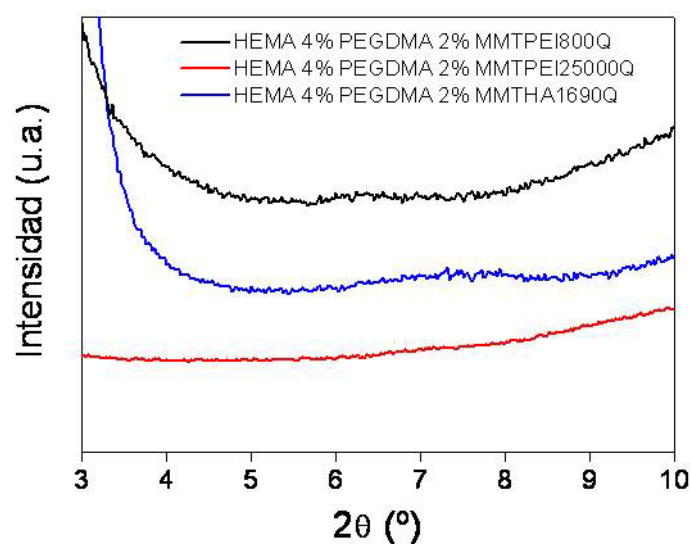
Como es característico en cinéticas de reacciones controladas por difusión, se produjo un incremento en la velocidad de fotopolimerización a bajos tiempos de irradiación. Este efecto de autoaceleración se debe a una disminución en la movilidad de los macrorradicales en crecimiento al aumentar la viscosidad, lo cual causa una reducción en la constante de terminación, y como resultado, la concentración del macrorradical aumenta, y por tanto la velocidad global de polimerización. En general se observó una dependencia del efecto gel con el contenido de arcilla en los nanocompuestos. El tratamiento orgánico de las arcillas conduce a un ensanchamiento del espaciado interlaminar y, junto con el carácter organofílico de dichas arcillas, facilita la penetración de los monómeros fotopolimerizables dentro de la estructura laminar induciendo la intercalación y eventualmente, la exfoliación. En general, con la incorporación de arcilla se ha observado un aumento en  $R_p^{max}$ , asociado con la baja difusión del monómero en la matriz polimérica. Este efecto es más acusado en el caso

de los materiales con MMT-PEI25000Q, ya que presenta un mayor grado de modificación que favorecería una mejor dispersión en la matriz polimérica.

La velocidad de polimerización y el grado de conversión disminuyen al aumentar el contenido de arcilla, este hecho podría estar asociado a una disminución de la radiación UV en la muestra como consecuencia de la presencia de tactoides de mayor tamaño formados por numerosas láminas agregadas.

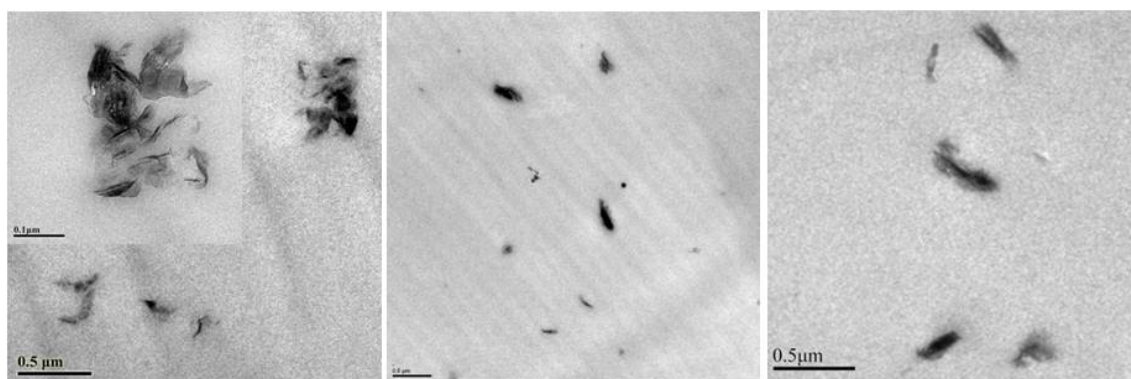
La incorporación de contenidos bajos de silicatos laminares (p. ej. 1%) produce una disminución de la  $T_g$ , de 104 °C correspondiente a la matriz polimérica, a 97-99 °C para los materiales nanocompuestos. Al aumentar la concentración de arcillas hasta un 3%, se obtuvo un valor de la  $T_g$  similar al de la matriz polimérica, este efecto se asocia al confinamiento de las cadenas poliméricas intercaladas entre las láminas de arcilla, cuya movilidad se encuentra restringida.

En la **Figura 5.8** se muestran los difractogramas de los materiales nanocompuestos con 2% de cada una de las arcillas. El pico  $d_{001}$  de la MMT, prácticamente desaparece en los materiales nanocompuestos, indicando la formación de estructuras intercaladas/exfoliadas. La ausencia de dicha señal sugiere que el espaciado basal entre los silicatos ha aumentado hasta un valor mayor que el rango analizado o que las láminas de arcilla se encuentran dispersas de forma desordenada en la matriz de HEMA/PEGDMA, e incluso se pueden considerar la falta de sensibilidad a contenidos bajos de carga o la orientación aleatoria de los tactoides. Debido a que la difracción de RX suministra información de la conformación macroscópica de las muestras, se llevó a cabo análisis por TEM, la **Figura 5.9** muestra las imágenes de los nanocomposites preparados con 1% de cada una de las arcillas.



**Figura 5.8.** Difractogramas de los nanocomposites de matriz HEMA4%PEGDMA y 2% de cada arcilla.

Las imágenes de TEM mostraban que las arcillas se encontraban uniformemente dispersadas en la matriz polimérica, y exfoliadas en forma de tactoides finos formados por unas pocas láminas. Estos resultados concuerdan con el análisis de difracción de RX, ya que la modificación orgánica provoca un aumento de la distancia interlaminar suficiente para la generación de una morfología exfoliada.



**Figura 5.9.** Imágenes de TEM de los nanocomposites HEMA4%PEGDMA 1%MMT-PEI800Q (a), 1%MMT-PEI25000Q (b) y 1%MMT-HA1690Q (c).

### 5.2.2 Propiedades térmicas de los nanocomposites.

La degradación térmica de HEMA4%PEGDMA y los nanocomposites preparados con las diferentes arcillas fue analizada mediante análisis termogravimétrico (TGA) y de emisión de quimioluminiscencia (QL).

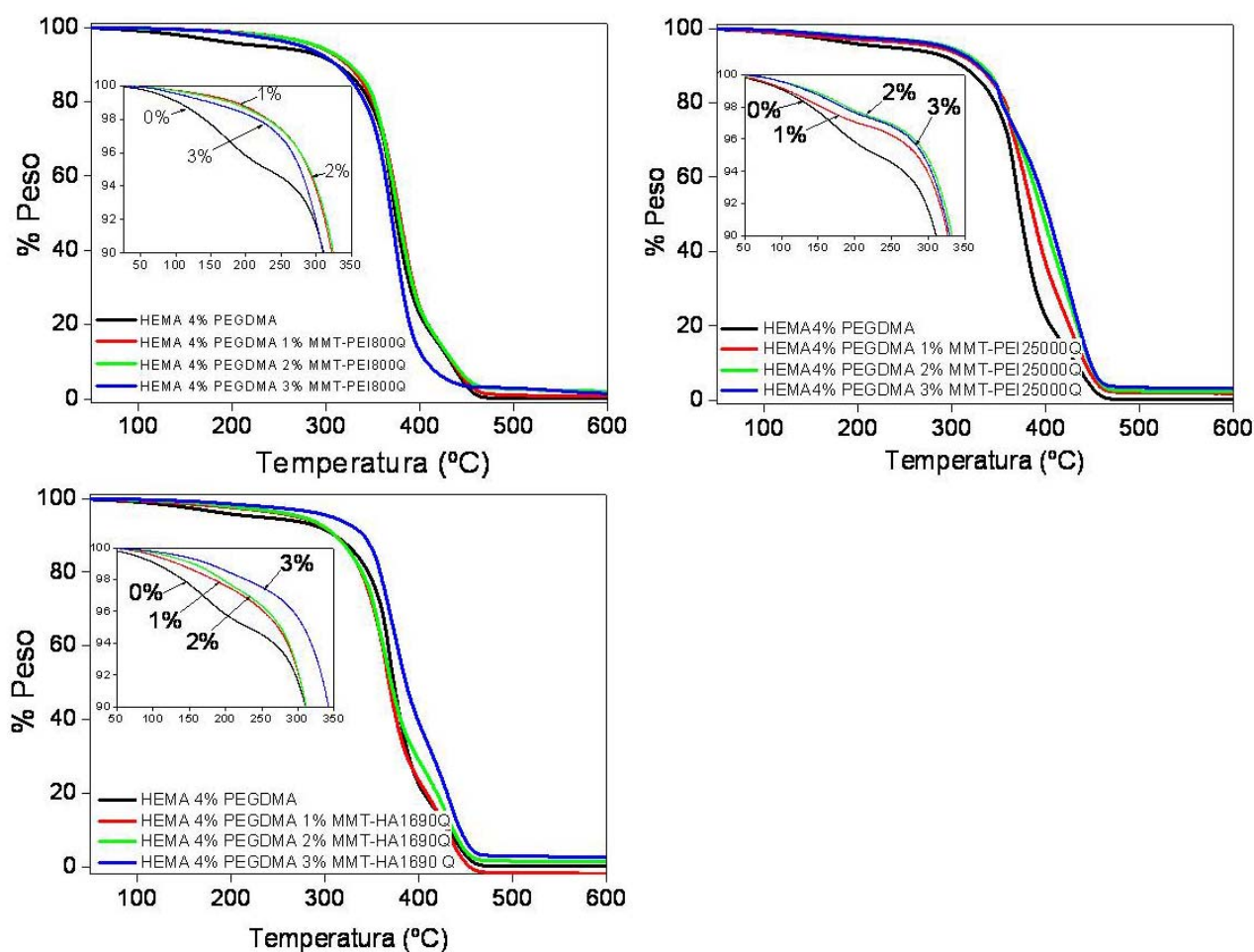
Mediante TGA se ha analizado la pérdida de peso en función de la temperatura desde 25 °C hasta 800 °C bajo un flujo de nitrógeno. Las curvas de pérdida de peso del polímero sin carga y de los nanocomposites con 1, 2 y 3% en peso de cada una de las arcillas se muestran en la **Figura 5.10**.

El comportamiento térmico de los nanocomposites es similar al de HEMA4%PEGDMA, las curvas de pérdida de peso muestran dos etapas de descomposición, la primera se debe al agua adsorbida, en presencia de arcillas esta pérdida de peso disminuye significativamente, indicando el menor contenido de agua debido al menor carácter hidrofílico de los materiales. La segunda etapa de pérdida tiene lugar entre 300 y 450 °C, para la que los nanocomposites mostraron una mayor temperatura de descomposición. Como ha sido determinado por otros autores, la descomposición térmica del poli 2-hidroxietil metacrilato se produce mayoritariamente mediante un proceso de despolimerización.<sup>227</sup> Este aumento en la estabilidad térmica se debe a la presencia de nanoláminas de arcilla con mayor estabilidad térmica y las excelentes propiedades barrera de las nanoláminas dispersadas en los nanocomposites, que contribuyen en el aislamiento térmico.

Estos resultados concuerdan con el análisis de difracción de RX donde se determinó la morfología de intercalación/exfoliación. Comparando los diferentes materiales con arcillas distintas, se puede afirmar que las muestras que contenían MMT-PEI25000Q presentaron la mayor estabilidad térmica, lo cual estaría relacionado con una mejor compatibilidad con la matriz y mejor dispersión en ella.

El estudio de la estabilidad térmica se llevó a cabo mediante el análisis de emisión de quimioluminiscencia. Primero se llevó a cabo el análisis dinámico bajo flujo de O<sub>2</sub> de las arcillas sin modificar y modificadas, para determinar su posible emisión que pudiese afectar al análisis del polímero bajo las mismas condiciones. En la **Figura 5.11d** se muestra la emisión de QL de las arcillas, que se detecta a temperaturas por encima de 100 °C. En el caso de las arcillas modificadas se produce un gran incremento de

intensidad de emisión y disminución del onset con respecto a la arcilla MMT-k10, lo que confirma la presencia de surfactantes intercalados, en los cuales se pueden generar hidroperóxidos, ya que poseen carbonos alifáticos en su estructura. La arcilla con la poliésteramida MMT-HA1690Q mostró una emisión de QL mucho más intensa que sus homólogas modificadas con polietileniminas a altas temperaturas debido a la mayor complejidad de su estructura. A pesar de la emisión de la QL detectada en las arcillas, y debido a la baja concentración de arcilla utilizada en los nanocomposites se puede considerar que su emisión no interfiere en el análisis de QL de los materiales.

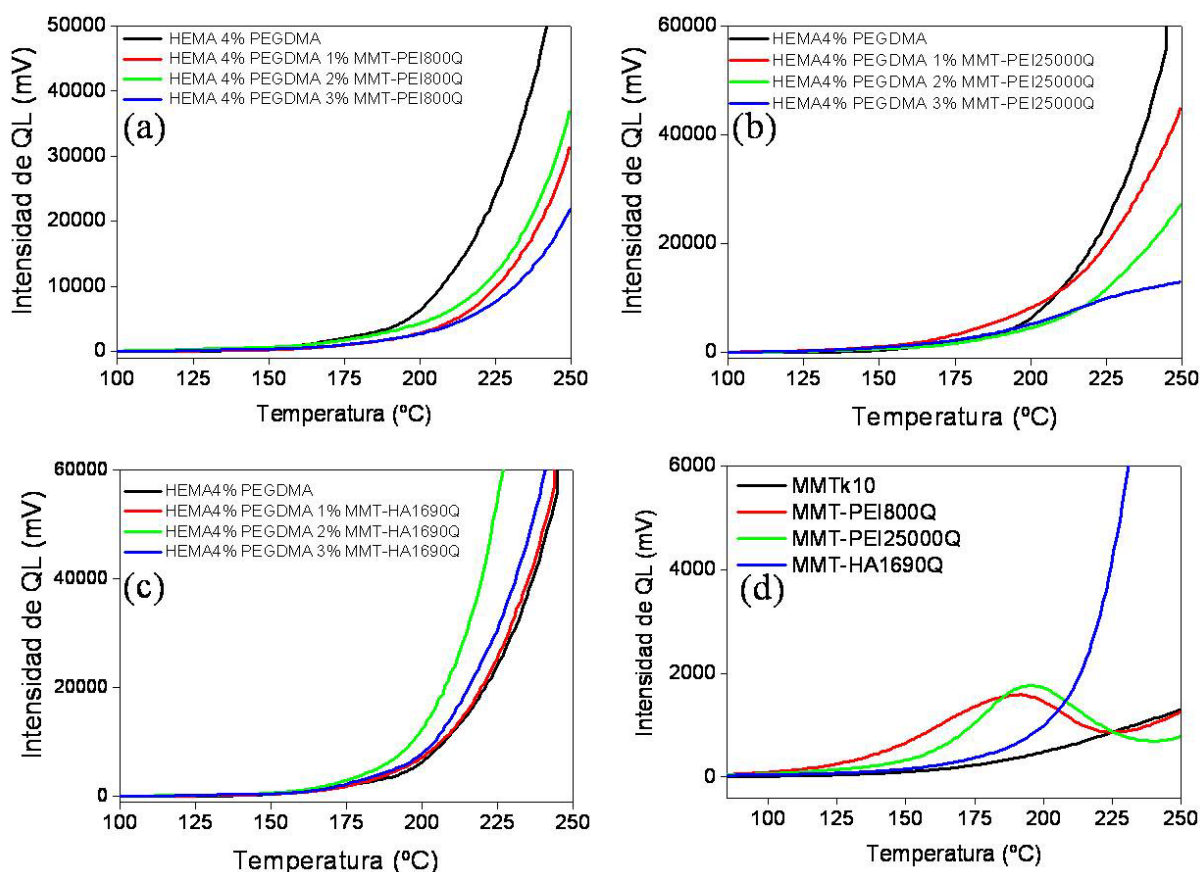


**Figura 5.10.** Curvas del análisis termogravimétrico del HEMA4%PEGDMA y de los materiales nanocompuestos con las diferentes concentraciones de cada una de las arcillas.

Mediante el análisis de la emisión de QL de las muestras HEMA4%PEGDMA y los materiales nanocompuestos, se puede estudiar la influencia de la naturaleza del



modificador y el contenido de arcilla, en la estabilidad térmica de los materiales. En el material preparado sin arcilla, se detectó la emisión de QL a temperaturas superiores a 100 °C, que corresponde con la  $T_g$  del material, donde la eficiencia del rendimiento cuántico de la emisión de QL aumenta debido al incremento en la movilidad de los hidroperóxidos, lo cual favorece las reacciones de desproporción, responsables de la emisión. En general se observa un aumento de la intensidad de QL más alta en atmósfera de oxígeno, ya que en tales condiciones se produce la oxidación de las muestras en una reacción controlada por difusión, simultánea a la emisión. Los macrorradicales reaccionan con el oxígeno para dar radicales peróxido, aumentando su concentración y favoreciendo la reacción bimolecular de terminación de dos radicales peroxi para dar productos cetónicos.



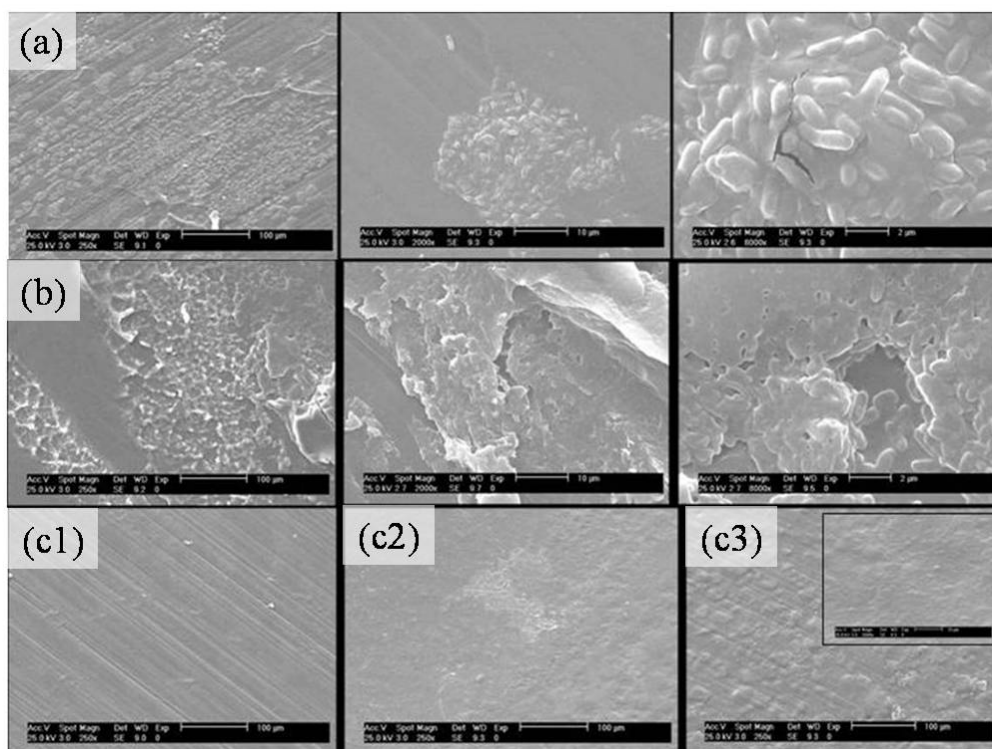
**Figura 5.11.** Emisión de quimioluminiscencia en experimentos dinámicos de temperatura bajo flujo de oxígeno de las arcillas MMT natural y las organo-modificadas (a). Emisión de QL de HEMA4%PEGDMA con 1, 2 y 3% en peso de MMT-PEI800Q, MMT-PEI25000Q y MMT-HA1690Q en b, c y d respectivamente.

Los nanocomposites que contienen MMT-PEI800Q y MMT-PEI25000Q presentaron una mayor estabilidad térmica con respecto al material sin carga, como se puede observar en la **Figura 5.11 b y c**. En general la intensidad de QL tiende a disminuir al aumentar el contenido de arcilla y el *onset* se desplaza a temperaturas superiores. Este comportamiento se asocia con la presencia de refuerzo que impide la difusión de especies de oxidación y hace que el material sea más estable frente a condiciones oxidativas. Este efecto es más significativo en los materiales con MMT-PEI25000Q, los cuales mostraron menor emisión de QL, y que está en concordancia con la mayor estabilidad observada por TGA. Sin embargo, HEMA4%PEGDMA1%MMT-HA1690Q muestra un comportamiento muy similar al HEMA4%PEGDMA, y al aumentar el contenido de arcilla, se produce un aumento de la emisión de QL, lo cual puede deberse a la presencia de agregados de mayor tamaño.

### 5.2.3 Actividad antimicrobiana y microdureza de los nanocomposites.

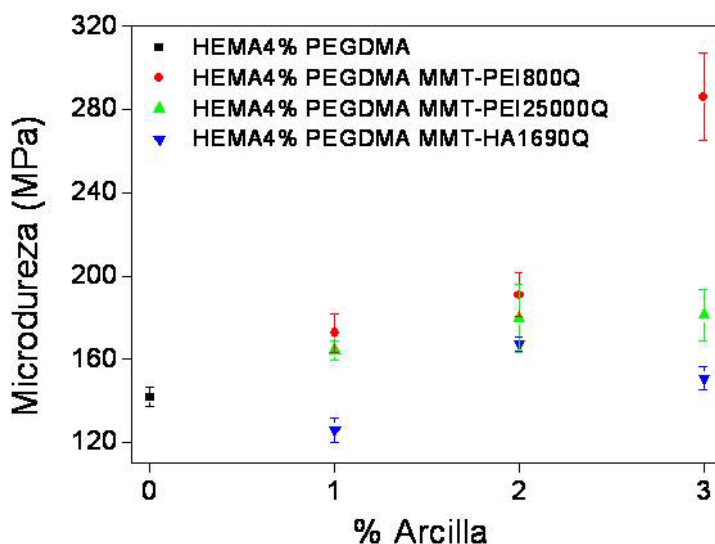
Con objeto de estudiar la actividad antimicrobiana de los nanocomposites se llevó a cabo el análisis de adhesión de la bacteria Gram-positiva *B. subtilis* y de la bacteria Gram-negativa *P. aeruginosa* sobre la superficie de los materiales fotocurados de HEMA4%PEGDMA, tomado como referencia y de los nanocomposites con 1% en peso de cada una de las organoarcillas. En la **Figura 5.12** se muestran las imágenes de SEM de la formación de biofilme de ambas bacterias sobre la superficie de la muestra de referencia y de los materiales nanocompuestos.

Los nanocomposites mostraron una marcada inhibición de la adhesión de ambas bacterias en sus superficies, **Figuras 5.12c1, c2 y c3**, comparado con la muestra de referencia, **Figuras 5.12a y b**, donde la colonización bacteriana de ambos microorganismos en las imágenes de microscopía electrónica, reflejaba la falta de actividad antibacteriana de la matriz polimérica.



**Figura 5.13.** Imágenes de SEM de la formación de biofilme sobre HEMA4%PEGDMA con (a) *B. subtilis*, (b) *P. aeruginosa*, y formación de biofilme con *B. subtilis* sobre los nanocomposites con 1 % de (c1) MMT-PEI800Q, (c2) MMT-PEI25000Q y (c3) MMT-HA1690Q.

Se ha publicado en trabajos anteriores que la dureza superficial, las terminaciones hidrofóbicas y la alta rugosidad pueden ser factores de regulación de la adhesión bacteriana.<sup>228</sup> Para evaluar la posible contribución de la dureza superficial en la colonización bacteriana, se analizó la microdureza de los materiales en función de la concentración de arcilla, y los valores se muestran en la **Figura 5.13**. La microdureza mide la resistencia del material a la deformación permanente. Para los nanocomposites preparados con MMT-HA1690Q se encontraron resultados similares que para el polímero puro. En el caso de los materiales preparados con MMT-PEI25000Q se observó un aumento de la microdureza al incorporar la carga hasta una concentración del 2% en peso. Sin embargo en las muestras con MMT-PEI800Q se produjo un aumento notable desde 155 MPa a 280 MPa al incrementar la concentración de arcilla del 2 al 3% en peso, este comportamiento puede ser asociado a las interacciones interfaciales entre polímero y refuerzo que se favorecen en la preparación de los materiales.



**Figura 5.13.** Microdureza de las muestras HEMA4%PEGDMA y de los nanocomposites con 1, 2 y 3% en peso de cada una de las arcillas.

Las diferencias de dureza encontradas entre los nanocomposites sugieren que éste no es el factor más determinante en la adhesión bacteriana. En consecuencia, los resultados obtenidos podrían indicar que la naturaleza del organomodificador presente en la arcilla juega un papel más importante en los procesos de adhesión de las bacterias estudiadas que la dureza, y que la alta eficiencia contra los microorganismos está relacionada con la presencia de HBP con una alta densidad de amonios cuaternarios anclados a la arcilla.

Como se ha explicado anteriormente, las interacciones entre los grupos amonio cuaternario y las especies cargadas negativamente situadas en la superficie de la membrana celular de las bacterias y conducen a cambios en la permeabilidad de ésta, produciendo su ruptura.<sup>69, 74</sup>



## **CAPÍTULO 6**



## **SÍNTESIS DE MATERIALES HÍBRIDOS MONTMORILLONITA - POLIETILENIMINA-MAGNETITA. APLICACIÓN COMO ADSORBENTES DE Cr (VI) PARA REMEDIACIÓN DE AGUAS.**

### **6.1 Introducción.**

La eliminación de Cr (VI) del agua potable tiene una gran importancia desde el punto de vista medioambiental, ya que esta especie es altamente peligrosa para la salud debido a su carácter altamente carcinogénico.<sup>229-230</sup> Las autoridades de protección medioambiental han fijado el límite de vertidos de Cr (VI) por debajo de 0.05 mg/L en agua superficial, mientras que el límite de Cr está por debajo de 2 mg/L, incluyendo Cr (III), Cr (IV) y sus otras formas.<sup>231</sup> En disolución acuosa a pH = 7, la especie  $\text{CrO}_4^{2-}$  que es isoestructural con el ión sulfato  $\text{SO}_4^{2-}$ , es transportada dentro de las células de los mamíferos mediante transportadores de sulfatos, donde  $\text{CrO}_4^{2-}$  a través de reacciones de oxidación, daña al ADN. El ión cromato puede ser liberado en agua potable a través de vertidos industriales, así como por erosión medioambiental. Los métodos clásicos disponibles para la eliminación de Cr presente en aguas residuales implican procesos tales como adsorción, reacciones de oxidación-reducción, precipitación y filtración, coagulación, ósmosis inversa, intercambio iónico o separación por membrana.<sup>229, 232-239</sup> La mayoría de estos métodos son efectivos, pero también complejos y sus altos costes restringen su uso. De entre estos métodos, la adsorción es uno de los más económicamente favorables y fáciles técnicamente.<sup>240</sup> Por otro lado, una vez que se ha llevado a cabo la adsorción, los adsorbentes son sustancias muy difíciles de extraer de la disolución utilizando métodos tradicionales de separación tales como la filtración y sedimentación.

En los últimos años, los adsorbentes magnéticos han emergido como una nueva generación de materiales para descontaminación medioambiental. La separación magnética es un método altamente deseable, comparado con otros métodos de separación, tales como la filtración o la centrifugación ya que requiere mucha menos energía para alcanzar un determinado nivel de separación. Este método de separación simplemente consiste en la aplicación de un campo magnético externo que puede ser generado por distintas fuentes (imanes permanentes o corrientes alternas) para extraer el



adsorbente. Por tanto, los sustratos magnéticos utilizados como materiales de soporte son una solución de gran interés ya que pueden ser fácilmente separados, mediante la simple aplicación de un campo magnético.<sup>241-244</sup>

Un gran número de grupos funcionales, incluyendo los grupos carboxilato, hidroxilo, sulfato, fosfato, amida y amina, han destacado por ser efectivos en la adsorción de metales.<sup>245-246</sup> Entre estos, el grupo amina es muy eficiente retirando metales pesados de disoluciones acuosas. No solamente a través de la quelación de metales iónicos, sino también adsorbiendo especies metálicas aniónicas a través de interacciones electrostáticas o enlaces de hidrógeno. La polietilenimina (PEI) se caracteriza por poseer en su estructura un gran número de aminas primarias y secundarias, y presenta una buena adsorción y afinidad por metales pesados.<sup>247-248</sup>

La combinación de este tipo de polímeros para adsorción de metales en disolución, con magnetita permite preparar un adsorbente magnético, pero la coagregación de las nanopartículas muy frecuentemente constituye un reto que la nanotecnología debe afrontar, ya que este efecto hace disminuir el área efectiva de las nanopartículas y, por tanto, reduce su actividad.

Varios métodos han sido desarrollados paralelamente para resolver la coagregación, como utilizar una variedad de soportes para las nanopartículas, como polímeros o materia inorgánica, por ejemplo sílice porosa o zeolitas.<sup>249-253</sup>

Como se ha descrito anteriormente, la MMT presenta unas propiedades superficiales de gran interés, debido a esto, esta arcilla se ha utilizado como catalizador,<sup>4</sup> adsorbente, agente quelante de metales y de refuerzo en materiales poliméricos nanocompuestos.<sup>16, 254-257</sup>

Además, la MMT se ha utilizado como soporte de nanomateriales híbridos.<sup>258-259</sup> Se ha estudiado la incorporación de partículas de óxido de hierro en la estructura de silicatos laminares<sup>260-261</sup> y éstos materiales magnéticos se han empleado en aplicaciones industriales<sup>262-264</sup> y medioambientales.<sup>265-266</sup>

Además de la incorporación de nanopartículas de magnetita, se han preparado materiales nanocompuestos combinando montmorillonita y otras nanopartículas metálicas con el fin de obtener materiales híbridos con aplicaciones específicas. Por ejemplo se han incorporado nanopartículas de ZnS en la superficie de MMT

consiguiendo un material híbrido adecuado para la fotoreducción de CO<sub>2</sub> a presión atmosférica y temperatura ambiente.<sup>267</sup>

Wu *et al.*<sup>268</sup> prepararon nanopartículas de plata recubiertas de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> como catalizadores de la fotodegradación bacteriana. Al adherir estas partículas en la superficie de MMT resultaron ser mucho más fáciles de separar del medio, mejorando su capacidad catalítica y de reciclaje.

Además se pueden encontrar múltiples trabajos en los que se han preparado materiales híbridos de silicatos laminares con nanopartículas de plata, en los que se combinan las excelentes propiedades superficiales de las arcillas con las propiedades antibacterianas de la plata, obteniendo así materiales híbridos nanocompuestos con propiedades únicas.<sup>215, 218-219, 258</sup>

## 6.2 Resultados y discusión.

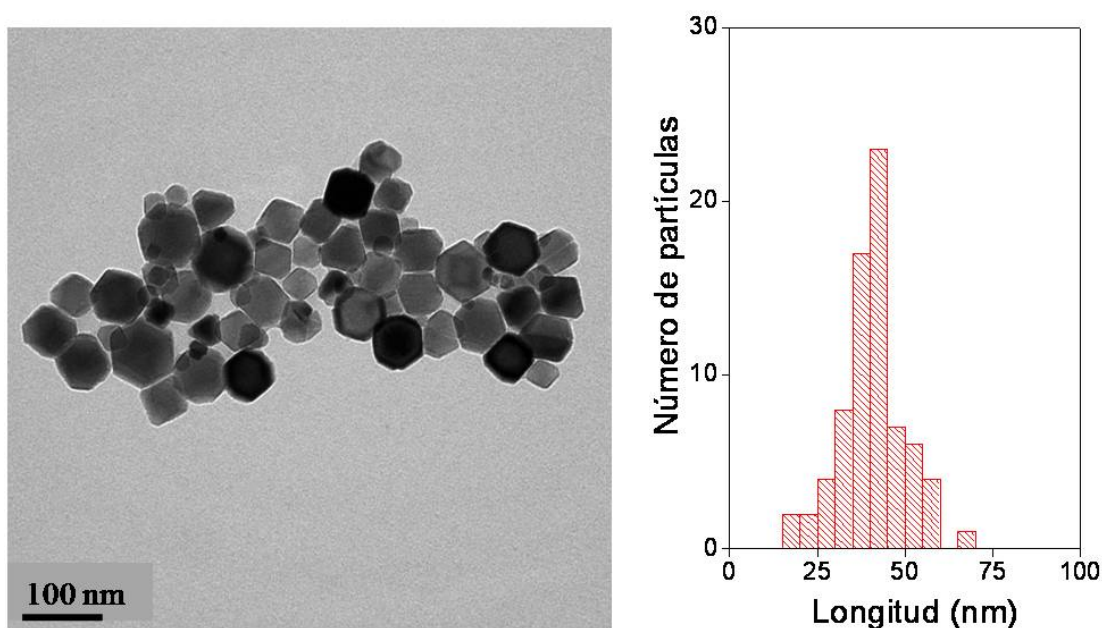
En este capítulo se describe la utilización de dos polímeros hiperramificados de polietilenimina, PEI800 y PEI25000, de distinto peso molecular y funcionalizados con grupos amonio cuaternario, adsorbidas en la superficie de nanopartículas de magnetita, para intercalarse en la estructura multilaminar de la MMT mediante intercambio catiónico con el fin de obtener adsorbentes magnéticos en el que las partículas de magnetita estén dispersadas entre las láminas de arcilla. Se ha analizado el efecto de la MMT como agente de anti-agregación de las nanopartículas de magnetita. Estos materiales híbridos se utilizaron como adsorbentes para eliminar Cr (VI) de disoluciones acuosas. Los experimentos de adsorción de Cr se llevaron a cabo estudiando la influencia de su concentración inicial así como del pH del medio.

La preparación de los materiales híbridos Magnetita-PEI-MMT se ha llevado a cabo siguiendo el procedimiento detallado en el apartado **3.4.3** de la **Parte Experimental**.

### 6.2.1 Caracterización de las nanoestructuras obtenidas.

#### 6.2.1.1 Microscopía electrónica de transmisión (TEM).

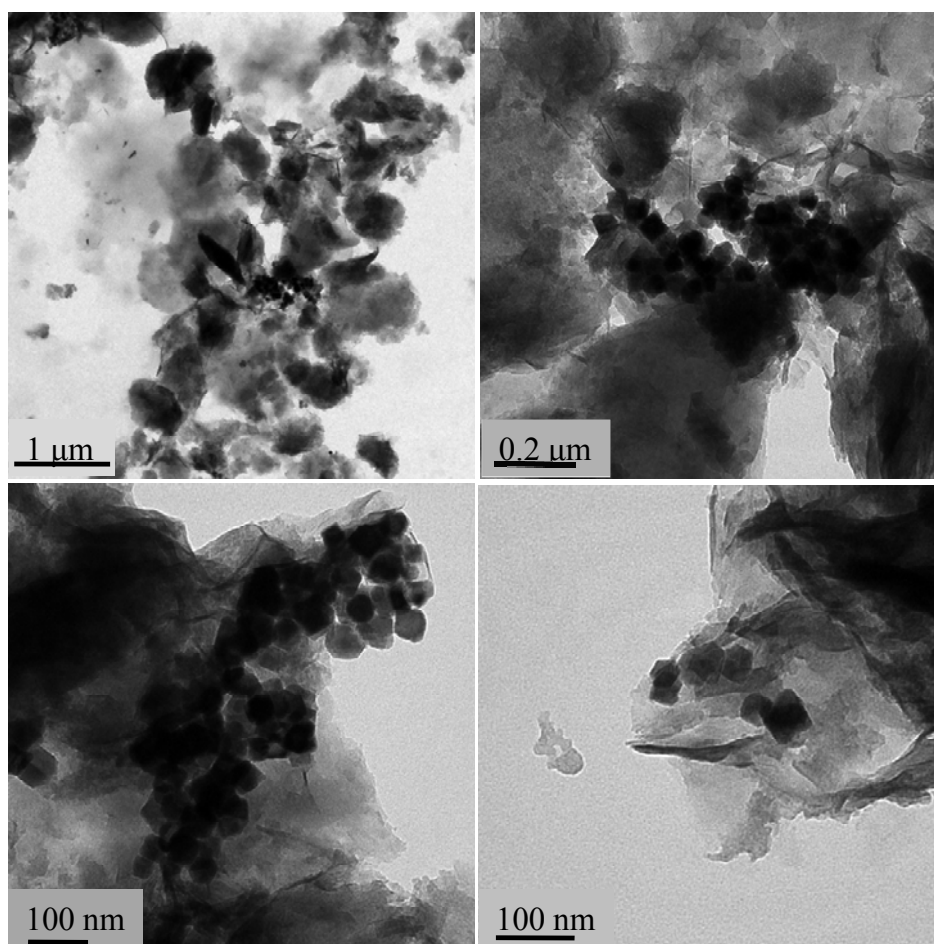
La **Figura 6.1** muestra la imagen de TEM de las nanopartículas magnéticas tomadas a baja magnificación. En ella se puede apreciar que las nanopartículas sintetizadas tienen forma cúbica bien definida con una longitud lateral uniforme de  $40 \pm 10$  nm.



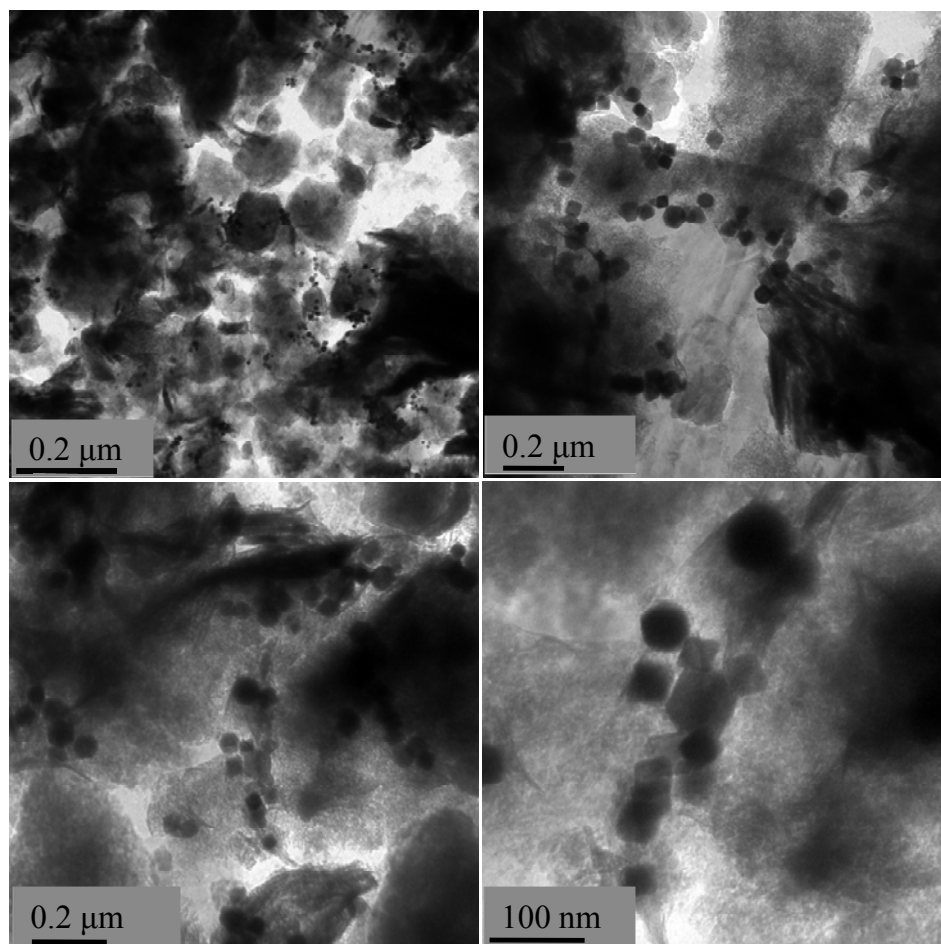
**Figura 6.1.** Imagen de TEM de las nanopartículas sintetizadas e histograma de la distribución de longitud lateral de las nanopartículas obtenido a partir de las imágenes de TEM.

Las **Figuras 6.2** y **6.3** muestran las imágenes de TEM de MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita, respectivamente. De acuerdo con las imágenes, en ambos casos se observó que la MMT estaba en forma de láminas exfoliadas individuales y tactoides en los que la PEI se encuentra intercalada entre las láminas de la arcilla. Las nanopartículas de magnetita se encontraron dispersas de manera individual en la superficie de las láminas de arcilla y formando pequeños agregados. Como cabía esperar, debido a su gran tamaño, las nanopartículas de magnetita cubiertas de PEI no fueron capaces de intercalarse entre las láminas formando estructuras tipo sándwich. La PEI en la superficie de la magnetita penetra en la estructura laminar produciendo intercalación y facilitando la exfoliación de los silicatos laminares durante el periodo de

aplicación de ultrasonidos. Aparentemente cuando se utilizó la PEI de mayor peso molecular (PEI25000), se consiguió una mejor dispersión de las nanopartículas en el material así como una reducción de la coagulación de éstas.



**Figura 6.2.** Imágenes de TEM del material MMT-PEI800-Magnetita.



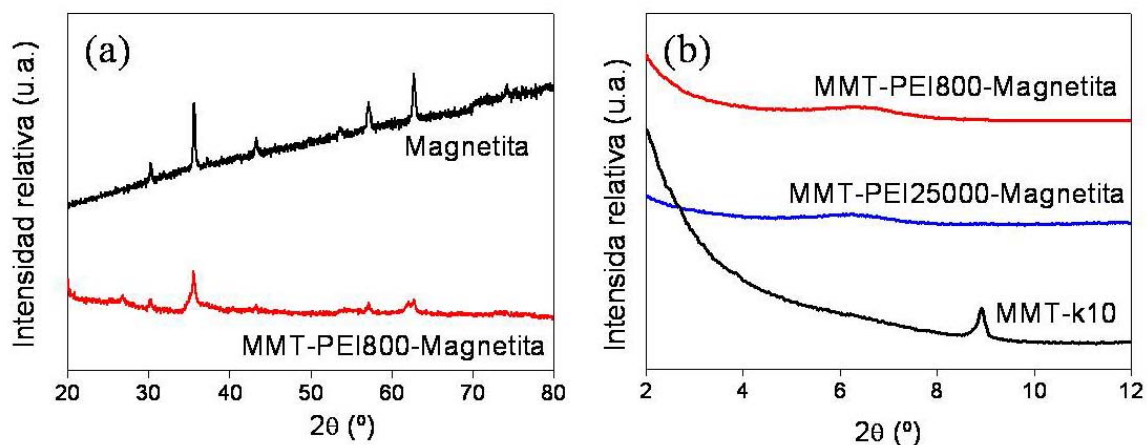
**Figura 6.3.** Imágenes de TEM del material MMT-PEI25000-Magnetita.

#### 6.2.1.2 Difracción de RX.

En la **Figura 6.4a** se muestran los difractogramas de las nanopartículas de magnetita y del material MMT-PEI800-Magnetita. Todos los picos de difracción de la magnetita pudieron correlacionarse con los datos existentes en la base de datos JCPDS (PCPDFWINv.2.02, PDF No. 85-1436) para su estructura de espinela inversa.

Los materiales MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita, cuyos difractogramas se muestran en la **Figura 6.4b** junto con el de la arcilla comercial MMT-k10, no presentaron diferencias en las señales por encima de  $20^\circ$  en relación con el difractograma de las nanopartículas de magnetita, ambos materiales mostraron los mismos picos de difracción. Sin embargo, a bajos valores de  $2\theta$ , los materiales híbridos presentaron señales características de los silicatos laminares.

En el difractograma de la MMT natural, por debajo de  $10^\circ$  se puede observar un pico característico centrado en  $8.9^\circ$  que corresponde a la difracción del plano  $d_{001}$  asociado a la distancia basal entre láminas de arcilla,<sup>269</sup> y corresponde a una separación de 1 nm.



**Figura 6.4.** Patrones de difracción de RX de magnetita y MMT-PEI800-Magnetita (a), y MMT, MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita (b).

Cuando se produce la reacción de intercambio entre los cationes  $\text{Na}^+$  y los amonios cuaternarios<sup>260</sup> de los HBP, las moléculas de PEI se intercalan entre las estructuras laminares y ensanchan el espaciado basal, hecho que se evidencia en los patrones de difracción. Como se ha visto en el capítulo anterior, como resultado de la intercalación, este espaciado aumenta desde 1 nm hasta 1.45 y 1.47 nm para MMT-PEI800 y MMT-PEI25000 respectivamente, sin embargo no se produjo un incremento sobre estos valores al incorporar nanopartículas de magnetita en las estructuras, cuyos espaciados basales fueron 1.42 y 1.45 nm respectivamente.

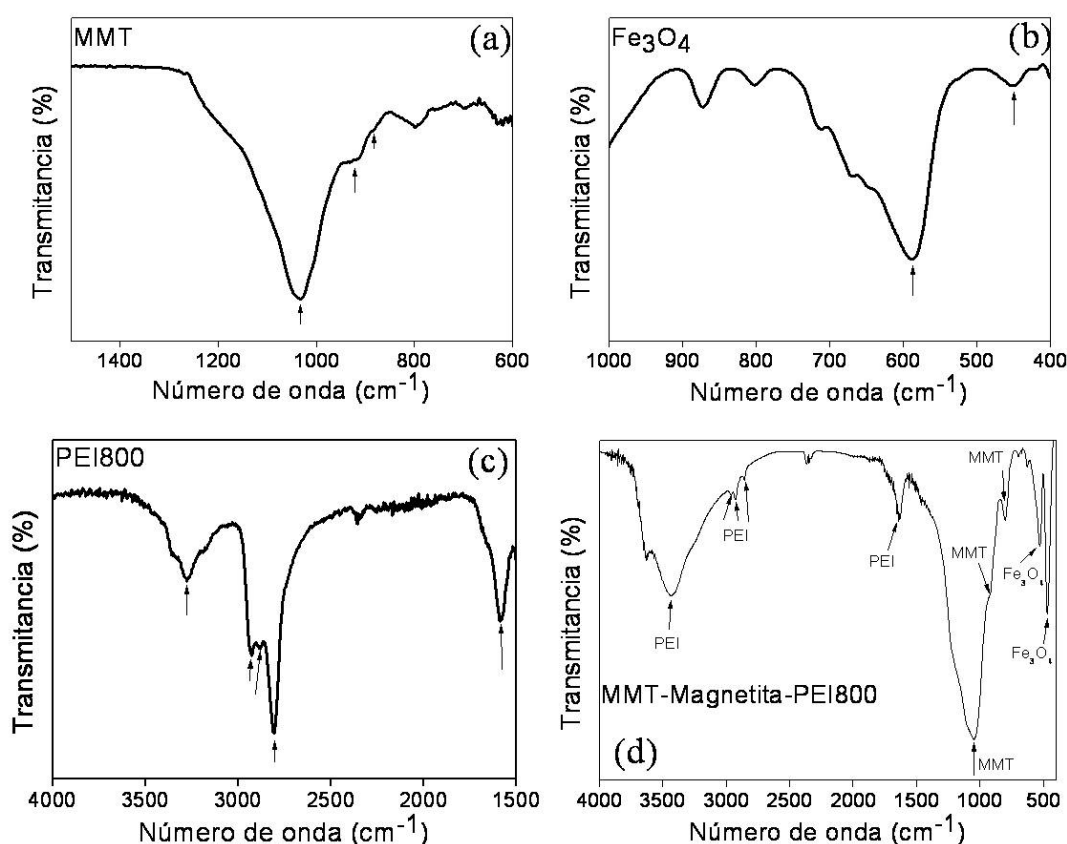
#### 6.2.1.3 Espectroscopía Infrarroja (FTIR).

Se observó el mismo espectro de FTIR para los materiales MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita, **Figura 6.5d**.

Como se ha discutido previamente, la MMT natural posee varias señales características de absorción (**Figura 6.5a**), siendo la más intensa la correspondiente a la tensión Si-O centrada en  $1031\text{ cm}^{-1}$ . También posee señales en  $915$ ,  $880$  y  $845\text{ cm}^{-1}$  que se asignan a

los modos vibracionales de los grupos hidroxilo asociados con dos cationes en las capas octaédricas.

En el caso de la magnetita (**Figura 6.5b**), ésta presenta una banda centrada en  $588\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a las deformaciones en las vacantes octaédricas y la señal centrada en  $452\text{ cm}^{-1}$  corresponde a las deformaciones en las vacantes tetraédricas. El resto de las señales que se observan en el espectro corresponden al ácido oleico que se emplea en la síntesis de las nanopartículas.



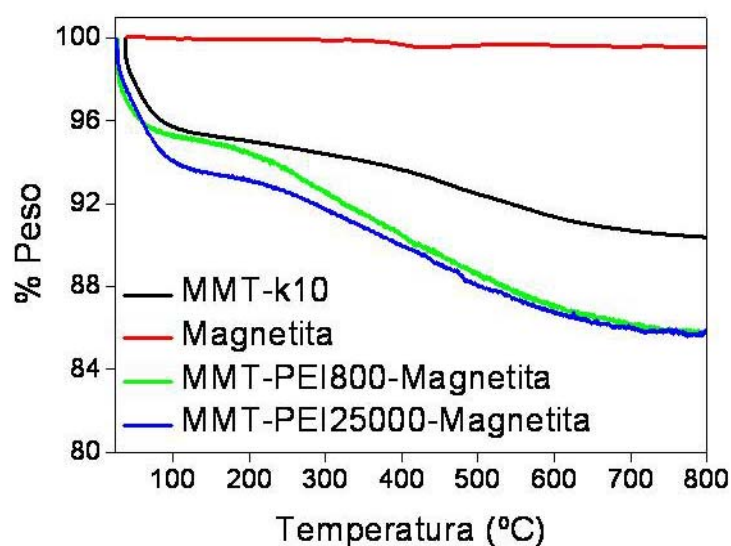
**Figura 6.5.** Espectros de FTIR de las muestras: (a) MMT, (b) Magnetita, (c) PEI800 cuaternizada y (d) el material híbrido MMT-PEI800-Magnetita.

En el espectro de la polietilenimina cuaternizada (**Figura 6.5c**) la banda entre 3000 y  $3500\text{ cm}^{-1}$  puede deberse a las tensiones NH, y la presencia de bandas de absorción a 2927, 2884 y  $2807\text{ cm}^{-1}$  corresponden a las tensiones simétricas y asimétricas de los grupos  $\text{CH}_3$  en las cadenas.

En el espectro del material híbrido fue posible encontrar la mayoría de las señales características de los tres componentes de partida, si bien la intensidad de la banda entre 3000 y 3500  $\text{cm}^{-1}$  de la PEI800 aparece mucho más intensa. Esto es debido a la presencia de más grupos amina, que aparecen como consecuencia de sucesivos lavados del material en los que se desprotonan algunos grupos amonio cuaternario.

#### 6.2.1.4 Análisis termogravimétrico (TGA).

La cantidad de PEI presente en los materiales MMT-PEI800 y MMT-PEI25000 fue determinada mediante análisis termogravimétrico. La **Figura 6.6** recoge las curvas de pérdida de peso de la MMT-k10, magnetita y ambos materiales híbridos bajo un flujo de nitrógeno. La magnetita no mostró una pérdida de peso significativa en el intervalo estudiado. Como se ha descrito en los capítulos anteriores, la MMT comercial pierde un 9% de peso correspondiente al agua adsorbida en su superficie. Para los materiales híbridos la pérdida de peso comienza a partir de 200  $^{\circ}\text{C}$ , y esta pérdida está asociada a la descomposición de la PEI. Ambos materiales híbridos presentaron una concentración de PEI similar del 4.5 %, calculada como la pérdida de peso a 800  $^{\circ}\text{C}$  respecto a la arcilla sin modificar.

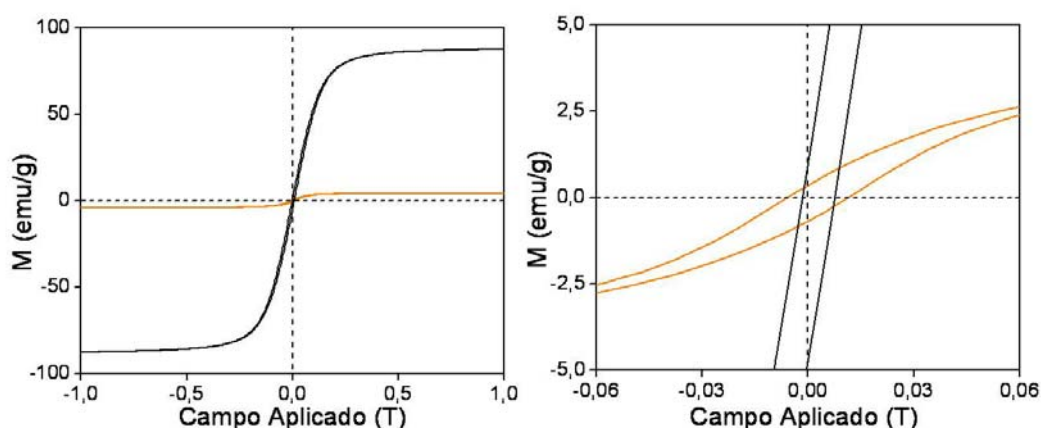


**Figura 6.6.** Curvas de pérdida de peso de MMT-k10, Magnetita, MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita.



#### 6.2.1.5 Medidas de magnetización.

En la **Figura 6.7** está representado el comportamiento magnético de las nanopartículas  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  junto con el del material MMT-PEI800-Magnetita, medidos a 300 K. Ambos sistemas muestran bucles de histéresis en los ciclos de magnetización, indicando la naturaleza ferrimagnética de los materiales. La saturación magnética de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y el material, MMT-PEI800-Magnetita fueron 87.4 y 4.2 emu/g, respectivamente. El valor más bajo de saturación magnética del material MMT-PEI800-Magnetita se debe a la menor concentración de nanopartículas ferrimagnéticas presentes en éste. Los valores de coercitividad fueron de 15.0 Oe para las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y 58.1 Oe para el material híbrido Magnetita-PEI800-MMT. La coercitividad<sup>270</sup> se define como la medida de la fuerza de campo magnético que se requiere para conseguir cambios en la dirección de magnetización de un material, y aumenta con la distancia entre las partículas. El valor de coercitividad observada es una combinación de varios mecanismos de anisotropía, tales como la anisotropía magneto-cristalina, anisotropía superficial e interacciones entre partículas. El aumento de coercitividad es una consecuencia en el cambio del acoplamiento del dipolo magnético tras la dispersión de las nanopartículas de magnetita dispersas entre las láminas de MMT. Las interacciones magnéticas varían con el inverso de la distancia entre partículas, a la tercera potencia. Este aumento en los valores de coercitividad indica que hay una disminución en las interacciones entre partículas magnéticas que se encuentran dispersas entre las láminas de arcilla. Por tanto el problema de coagregación en las nanopartículas magnéticas se ve minimizado. La propiedad de magnetización posibilita al adsorbente ser fácilmente separable de la disolución acuosa bajo un campo magnético en menos de 30 s.

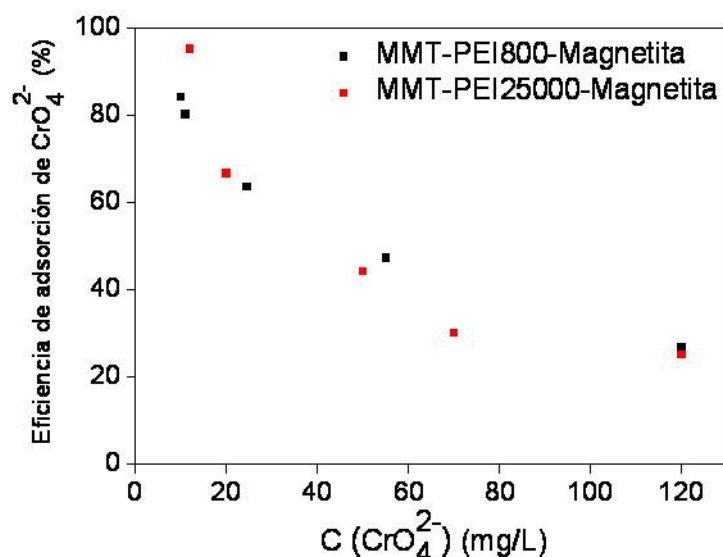


**Figura 6.7.** Comportamiento magnético a 300 K. Ciclos de magnetización de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (—) y MMT-PEI800-Magnetita (—). En la gráfica de la derecha se observa una ampliación.

## 6.2.2 Capacidad de adsorción de Cr (VI).

### 6.2.2.1 Efecto de la concentración inicial de Cr (VI).

Con objeto de estudiar el efecto que la concentración inicial de Cr (VI) produce en la eficiencia de adsorción de Cr (VI), una cantidad constante de 4 g/L de los materiales híbridos se añadió a disoluciones de distinta concentración de  $\text{CrO}_4^{2-}$  a pH 3. La duración de todos los experimentos fue de 120 minutos y a una temperatura de 25 °C. El experimento detallado se describe en el apartado 3.4.3.4 de la **Parte Experimental**. La eficiencia de adsorción de Cr (VI) disminuyó al aumentar la concentración inicial de Cr (VI) para los dos materiales híbridos MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita. Este hecho está asociado a que se alcanza la saturación de los puntos de adsorción de los adsorbentes cuando se utilizan altas concentraciones de Cr (VI). Al comparar ambos materiales híbridos se pudo comprobar que en general MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita mostraron valores de eficiencia muy similares, **Figura 6.8**.



**Figura 6.8.** Eficiencia de adsorción de Cr (VI) en función de la concentración inicial de Cr (VI).

Los materiales híbridos utilizados para este trabajo son el resultado de la combinación de tres materiales, y se ha evaluado la eficiencia de adsorción de Cr (VI) de cada uno de ellos de forma individual.

La eficiencia de adsorción de la MMT-k10 fue determinada utilizando una disolución inicial de Cr (VI) de 12 mg/L a pH 3. Esta arcilla presentó una eficiencia del 40 %, mucho menor que el material MMT-PEI800-Magnetita en las mismas condiciones experimentales. Esta eficiencia menor se puede explicar considerando que la cara superficial de la MMT contiene cargas negativas,<sup>213</sup> y la adsorción de las especies aniónicas Cr (VI) no está favorecida. Se pudo comprobar cómo la eficiencia de adsorción de la MMT disminuyó más con el incremento del valor de pH.<sup>266</sup>

En el caso de las nanopartículas de magnetita, han sido publicados altos valores de eficiencia de adsorción de Cr (VI) en un rango de pH entre 1 y 3, llegando al 95 %, en concentraciones iniciales menores de 55 mg/L.<sup>271</sup> A pesar de estos altos valores, la magnetita como adsorbente posee algunos inconvenientes, como la coagulación y una estabilidad reducida, ya que el hierro de la magnetita en disolución es fácil de degradar, comparado con la magnetita recubierta o “protegida” por silicatos laminares.<sup>271</sup>

El último componente presente en los materiales híbridos, la PEI, es bien conocida por ser un buen adsorbente de Cr (VI) en cualquier rango de pH (0-10.4) por debajo de su  $pK_a$ , pero presenta la dificultad de ser separada del medio de reacción.

La combinación de los tres componentes resulta en un material magnético híbrido con una serie de ventajas: alta eficiencia de adsorción y estabilidad química en un rango de pH entre 0 y 11, debido a la protección otorgada por el recubrimiento de MMT/PEI, reducción del problema de la coagregación y facilidad en la separación.

#### 6.2.2.2 Efecto del pH.

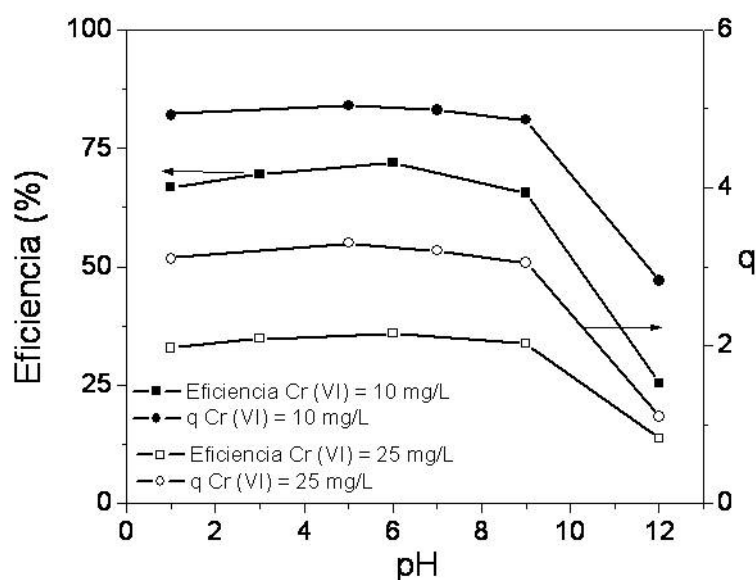
Debido al comportamiento similar en la eficiencia de los materiales híbridos con las dos polietileniminas, el híbrido preparado con PEI800 fue seleccionado para los ensayos de adsorción a diferentes valores de pH entre 1 y 12. El efecto del pH de la disolución en la eficiencia de adsorción de Cr (VI) del material MMT-PEI800-Magnetita se muestra en la **Figura 6.9**, junto con la cantidad de Cr (VI) adsorbida por unidad de masa del adsorbente,  $q$ , que siguió la misma tendencia. Las concentraciones de Cr (VI) elegidas fueron 10 y 25 mg/L, obteniendo tendencias similares en ambos casos. La adsorción de Cr (VI) no cambia significativamente con el incremento de pH de 1 a 10, contrariamente a otros adsorbentes magnéticos descritos en la literatura.<sup>272</sup> La eficiencia de adsorción incrementó ligeramente de pH 2 a pH 6. Por encima de pH 6, la eficiencia comenzó a disminuir.

Se observó una disminución espectacular en un valor de pH de 12, que podría ser explicado considerando que el pH es un parámetro que afecta crucialmente a la adsorción de iones metálicos, no sólo mediante la influencia en las propiedades superficiales del adsorbente, sino que también afecta a la especiación del metal en disolución.<sup>273-274</sup> Con objeto de profundizar en los mecanismos de adsorción de los iones cromato por los materiales híbridos, es necesario conocer la especiación del Cr (VI) a diferentes valores de pH. La especiación del Cr (VI) viene determinada tanto por el pH como por su concentración.<sup>275</sup> El anión  $CrO_4^{2-}$  es la especie predominante a pH por encima de 6.5; los aniones  $HCrO_4^-$  y  $Cr_2O_7^{2-}$  se encuentran en una proporción de 80 % y 20 % respectivamente, en el rango de pH entre 2 y 5; y  $H_2CrO_4$  y  $HCrO_4^-$  son las especies mayoritarias a pH por debajo de 2.<sup>276</sup>

Los grupos amino de la PEI (primarias  $\approx$  terciarias  $<$  secundarias) se encuentran protonados a pH por debajo de 10.4 y adsorben cromo hexavalente ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCrO}_4^-$  y  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) vía atracciones electrostáticas.

A pH por encima de 10.4, los grupos amino se encuentran cargados negativamente y las interacciones electrostáticas con el anión  $\text{CrO}_4^{2-}$  desaparecen, y por tanto, la eficiencia de adsorción decrece considerablemente.

Por otro lado, a pH menor de 2, se observó un pequeño descenso en la capacidad de respuesta, debido a que la especie de cromo predominante es  $\text{H}_2\text{CrO}_4$  y se produce una fuerte competencia entre ésta y los protones por los puntos de adsorción.



**Figura 6.9.** Eficiencia de MMT-PEI800-Magnetita en la adsorción de cromo en función del pH.

Con objeto de describir las interacciones entre un adsorbente y la especie adsorbida y diseñar y operar un sistema de adsorción con éxito, es muy importante tener en cuenta los datos de equilibrio de adsorción isoterma. En la **Figura 6.10b** se muestran las isotermas de adsorción del Cr (VI) de los materiales híbridos a 25 °C.

Los datos de equilibrio de adsorción de Cr (VI) de ambos materiales híbridos se aplicaron a dos modelos de adsorción isoterma, Langmuir<sup>277</sup> y Freundlich<sup>278</sup> asociados a los resultados experimentales. Los parámetros relativos de ambos modelos fueron determinados a 25 °C y se muestran en la **Tabla 6.1**.

La forma lineal de la isoterma Langmuir es:

$$\text{Ecuación 6.1} \quad \frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_0 b} + \frac{1}{Q_0} C_e$$

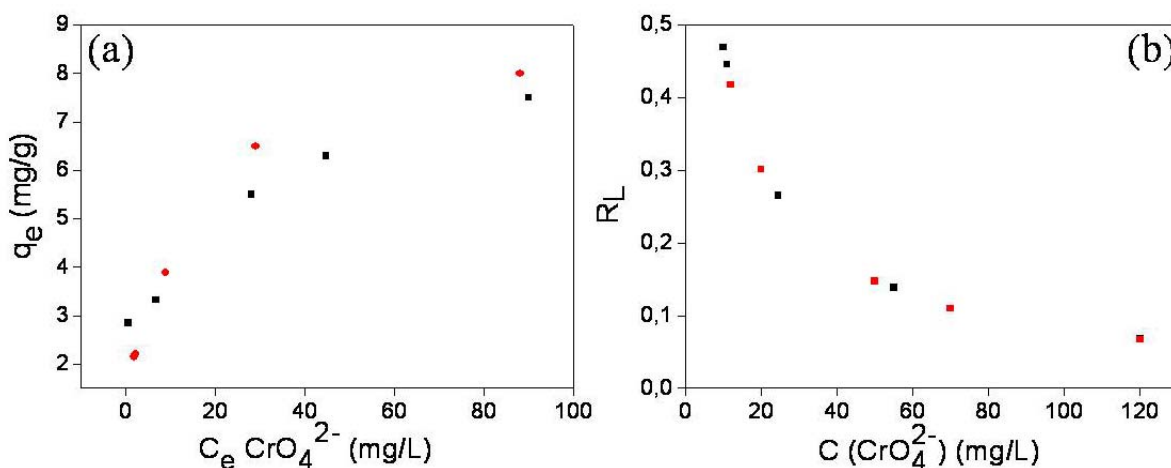
donde  $q_e$  (mg/g) es la cantidad adsorbida en equilibrio y  $C_e$  (mg/L) es la concentración en equilibrio.  $b$  es la constante de la isoterma de Langmuir ( $L \cdot g^{-1}$ );  $Q_0$  es la capacidad máxima de cobertura de monocapa ( $mg \cdot g^{-1}$ ). La representación lineal de  $C_e/q_e$  frente a  $C_e$  representa la adsorción ajustada al modelo de Langmuir, **Figura 6.10a**. La capacidad máxima de adsorción ( $Q_0$ ) y la energía de adsorción  $b$  se determinan a partir de la pendiente y la ordenada en el origen. La característica esencial de la isoterma de Langmuir puede ser expresada en términos de constante adimensional o factor de separación  $R_L$ , el cual viene dado por la siguiente expresión:

$$\text{Ecuación 6.2} \quad R_L = \frac{1}{1 + bC_0}$$

donde  $C_0$  es la concentración inicial de la disolución de cromato. Los valores  $R_L$  entre 0 y 1 indican una adsorción de Cr (VI) favorable sobre los materiales híbridos.

La forma lineal de la isoterma de Freundlich es:

$$\text{Ecuación 6.3} \quad \log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e$$



**Figura 6.10.** (a) Isotermas de adsorción de Cr (VI) de MMT-PEI800-Magnetita (■) y MMT-PEI25000-Magnetita (■). (b) Valores de  $R_L$  en función de la concentración inicial de Cr para los materiales MMT-PEI800-Magnetita (■) y MMT-PEI25000-Magnetita (■).

donde  $K_F$  y  $1/n$  son las constantes de Freundlich relacionadas con la capacidad de adsorción y la intensidad de adsorción, y vienen determinadas por la pendiente y la ordenada en el origen de la representación de  $\ln C_e$  y  $\ln q_e$ . El modelo de equilibrio que mejor se ajusta fue determinado en base al coeficiente de correlación de regresión  $R$ , como se muestra en la **Tabla 6.1**. Para los materiales híbridos MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita se obtuvo un mejor ajuste de los datos experimentales con el modelo de adsorción de Langmuir. La capacidad de adsorción de ambos materiales híbridos resultante fue 8.77 y 7.60 mg/g para MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita respectivamente. Aunque se han publicado adsorbentes similares con mayores valores de capacidad de adsorción,<sup>279-281</sup> los adsorbentes preparados en este trabajo presentan las siguientes ventajas: pueden ser separados del medio de reacción simplemente por aplicación de un campo magnético y pueden ser usados en un amplio rango de pH (1-9) manteniendo altos valores de eficiencia.

**Tabla 6.1.** Parámetros de las isotermas de adsorción de Cr (VI) para ambos materiales híbridos MMT-PEI800-Magnetita y MMT-PEI25000-Magnetita.

Isotermas de adsorción y parámetros	MMT-PEI800-Magnetita	MMT-PEI25000-Magnetita
<b>Langmuir</b>		
$b$ (L/g)	0.113	0.116
$Q_0$ (mg/g)	8.77	7.69
$R^2$	0.995	0.930
<b>Freundlich</b>		
$K$ (mmol <sup>1-1/n</sup> L <sup>1/n</sup> /g)	1.781	2.834
$n$	3.989	5.423
$R^2$	0.973	0.830

## **CAPÍTULO 7**





## **MATERIALES NANOCOMPUESTOS PVA/Ag CON SUPERFICIE MICROESTRUCTURADA.**

### **7.1 Introducción.**

#### **7.1.1 Preparación de superficies microestructuradas *vía* litografía.**

En los últimos años se ha hecho un gran esfuerzo para establecer tecnologías de fabricación de superficies micro y nanoestructuradas, que permitan la producción de geometrías complejas y que al mismo tiempo sean económicas y fáciles de llevar a cabo. La litografía es una técnica empleada para transferir un patrón estructural a un sustrato polimérico fotosensible a través de irradiación, generalmente luz UV.

El proceso comienza con el recubrimiento de un sustrato plano, que generalmente es una oblea de silicio (silicon wafer), con la resina fotosensible (“photoresist”) en forma de líquido. Después del recubrimiento el sustrato es calentado suavemente para eliminar los disolventes presentes y mejorar la adhesión entre el silicio y la resina. En el paso siguiente el sustrato es expuesto a una fuente de irradiación de forma selectiva, a través de una máscara, e induce procesos fotoquímicos en los que las zonas irradiadas sufren modificaciones en sus propiedades físico-químicas, por ejemplo entrecruzamiento que mejoran la estabilidad mecánica de los patrones estructurales., y que pueden ser diferenciadas de las no irradiadas en un siguiente paso de desarrollo. En una etapa posterior se procede a la eliminación de la fase no curada, y tratamiento térmico obteniendo la oblea de silicio superficialmente estructurada.

No obstante, debido a la extrema fragilidad de las obleas de silicio, para proporcionar una estructura determinada a la superficie de un polímero, se suele fabricar una réplica de dicha oblea en una silicona, generalmente poli dimetilsiloxano (PDMS). Este polímero presenta características idóneas para tal fin, como son: transparencia, flexibilidad, no toxicidad, facilidad de procesado, bajo precio y estabilidad química.

Una vez que se ha preparado una réplica de la oblea de silicio en silicona, ésta se puede emplear como soporte para la preparación de materiales con superficie estructurada

utilizando diversos métodos: irradiación de una mezcla fotopolimerizable a través de ella, moldeado en fundido<sup>282</sup> o bien evaporación de una disolución de polímero.<sup>283</sup>

### **7.1.2 Adhesión bacteriana en superficies.**

El interés sobre la adhesión bacteriana en superficies poliméricas ha crecido enormemente debido al riesgo de contaminación que existe en biomateriales, utensilios quirúrgicos, plásticos de la industria alimenticia, etc. y que conduce a problemas higiénicos y económicos de gran envergadura.

La adhesión bacteriana es la etapa crucial en la formación del biofilme, siendo su prevención prioritaria, ya que una vez que el biofilme se ha formado, es extremadamente difícil de eliminar o desinfectar dicha superficie.<sup>282</sup>

Se han desarrollado distintos métodos para evitar la adhesión bacteriana en superficies: recubrimientos con polímeros con propiedades antibacterianas,<sup>284</sup> uso de polímeros de liberación controlada de agentes biocidas<sup>285</sup> o incorporación de nanopartículas biocidas como, por ejemplo, de plata.<sup>286</sup>

Así, la mayoría de los estudios se centran en el control de la adhesión bacteriana a través de las interacciones físico-químicas con la superficie, sin embargo la relación entre la topografía superficial (rugosidad, estructuras más o menos definidas, etc.) y la adhesión bacteriana sigue siendo objeto de estudio.

Está generalmente reconocido que existe una relación entre los diversos parámetros que caracterizan una superficie (como la rugosidad y la forma y el tamaño de las estructuras presentes en una superficie) y la retención de microorganismos en dicha superficie. Sin embargo esta correlación solamente es válida para estructuras de ciertas dimensiones: si las estructuras son considerablemente más grandes que las células microbianas, la retención no es significativa, y, si las facciones son de tamaño similar a las células, la retención se incrementa, convirtiéndose en un problema.<sup>287-288</sup>

El efecto que la forma y tamaño de las estructuras de una superficie tienen sobre la adhesión celular ha sido estudiado en diversos materiales. Por ejemplo, Kim y colaboradores<sup>282</sup> estudiaron la adhesión bacteriana en superficies de poli etilenglicol dimetacrilato (PEGDMA) y poli metacrilato de metilo (PMMA) microestructuradas con

cubos de entre 3 y 10  $\mu\text{m}$  de lado. Primero prepararon las estructuras por litografía, de las que obtuvieron las réplicas en PDMS. En el caso del PMMA la estructura se obtuvo a partir del polímero en fundido y en el caso del PEGDMA, por irradiación a través del molde. Los ensayos de adhesión bacteriana se llevaron a cabo con *Pseudomonas aeruginosa*, la cual mostró una mayor adhesión en las superficies en las cuales los cubos eran de menor tamaño, tanto en el PEGDMA como en el PMMA.

Con objeto de estudiar la relación que existe entre la forma de una bacteria y retención de dicha bacteria en los surcos presentes en una superficie, Verran y colaboradores<sup>90</sup> prepararon sustratos de acero inoxidable que recubrieron de titanio con patrón superficial de dimensiones similares a las bacterias. Los surcos fueron de 0.59 y 1.02  $\mu\text{m}$ . Las bacterias que utilizaron fueron *Staphylococcus sciuri* y *Listeria monocytogenes*, la primera de coco y la segunda en forma de bacilo. Se encontró que en los surcos de menor tamaño la mayoría de las células retenidas eran *L. monocytogenes* sin embargo en los surcos de mayor tamaño, eran *S. sciuri*. Este fenómeno fue atribuido a la disponibilidad de área para el contacto entre célula y superficie. Las células alargadas se quedaron retenidas en las superficies con surcos mayores debido a que encuentran mayor superficie, sin embargo, el efecto contrario se encontró en las superficies con surcos menores, donde se produce mayor retención de las células esféricas.

### 7.1.3 Síntesis de nanopartículas de plata mediante irradiación UV.

La preparación de nanopartículas metálicas es un área de intensa investigación científica debido al amplio espectro de potenciales aplicaciones que poseen, desde la electrónica hasta la biomedicina. Durante las décadas pasadas, se han desarrollado una variedad de métodos de síntesis de nanopartículas metálicas: química, fotoquímica, térmica, etc. De entre todos estos métodos, la síntesis fotoquímica ha atraído gran atención debido a su versatilidad, selectividad espacial, eficiencia energética, y ausencia de disolventes orgánicos.

La síntesis fotoquímica consiste en la formación del metal en estado de oxidación cero ( $M^0$ ) bajo condiciones en las que se evita su precipitación.  $M^0$  se genera mediante la

fotoreducción directa de un ión metálico o la reducción de iones metálicos utilizando los intermedios generados fotoquímicamente, tales como moléculas excitadas o radicales.

Entre las nanopartículas que se preparan mediante fotoreducción directa de la fuente metálica, se encuentran las nanopartículas de plata (Ag NPs). Por medio de la irradiación, los iones de  $\text{Ag}^+$  se excitan y se produce la transferencia de un electrón del medio, bien sea del disolvente o de otra molécula del medio, generando  $\text{Ag}^0$ . Generalmente las moléculas donadoras de electrones son alcoholes, que además estabilizan las nanopartículas de plata.

La síntesis *in situ* de Ag NPs consiste en la reducción de  $\text{Ag}^+$  mediante la irradiación de una mezcla polímero o monómero/sal de plata, que generalmente está asistida por un donador de electrones y/o por una molécula que estabiliza la formación de las nanopartículas.<sup>82, 289-292</sup> Esta manera de preparar nanocomposites de Ag es especialmente interesante ya que se tiene el control espacial del proceso, además de ser energética y económicamente muy eficiente y un proceso limpio.

Park y colaboradores<sup>289</sup> sintetizaron un copolímero de bloque, vía ATRP, con unidades de poliestireno (PS) y polivinil pirrolidina (PVP), al que incorporaron una sal de plata. Comprobaron cómo los cationes de  $\text{Ag}^+$  tendían a situarse en los dominios de PVP debido a la mayor afinidad con los carbonilos de la PVP. La mezcla fue sometida a irradiación UV, y las Ag NPs formadas eran estabilizadas por los grupos carbonilo, quedando confinadas en sus dominios.

Otra estrategia llevada a cabo por Uygun y colaboradores<sup>82</sup> consistió en incorporar la sal precursora de las nanopartículas en una mezcla acrílica fotopolimerizable, un iniciador capaz de generar radicales por acción de la luz y citrato sódico, cuya función era estabilizar el crecimiento de las nanopartículas. Al irradiar, se inicia la reacción de polimerización, y además se produce la reducción de los cationes de  $\text{Ag}^+$ .

Las nanopartículas metálicas son objeto de gran interés por sus aplicaciones en diversidad de campos, como catálisis, electroquímica, óptica, etc.<sup>293</sup> No obstante las nanopartículas de plata han encontrado sus mayores aplicaciones en la preparación de materiales con aplicaciones biomédicas debido a sus propiedades antimicrobianas,<sup>82-83, 294</sup> aunque su mecanismo de acción bactericida es aún objeto de estudio.<sup>286</sup> Algunos estudios proponen que las nanopartículas de plata se adhieren a la superficie bacteriana

perturbando la permeabilidad y las funciones respiratorias de la célula. También se propone la interacción de las partículas con el ADN bacteriano, haciendo que pierda su capacidad de replicación.

Las infecciones son la principal causa de complicaciones y muertes en los hospitales, por tanto la búsqueda de materiales que no pierdan sus propiedades de esterilidad es un reto de gran interés. Debido a sus propiedades antibacterianas, las Ag NPs han sido incorporadas en varias aplicaciones médicas, como catéteres de polímero recubiertos de Ag NPs, que previenen la formación de biofilme, aerosoles o cemento óseo cargados con Ag NPs.

#### **7.1.4 Materiales nanocompuestos PVA/Ag preparados por irradiación *in situ*.**

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero semicristalino, transparente, soluble en agua, y con excelente capacidad de formación de películas, debido a ello sus principales aplicaciones han sido en fotografía, fabricación de lentes de contacto, membranas, etc. Al ser un polímero no tóxico y completamente degradable, es un candidato idóneo para aplicaciones en liberación controlada de fármacos y vasos sanguíneos artificiales.<sup>295</sup>

La fabricación *in situ* de nanopartículas de plata por irradiación directa de un filme de PVA con  $\text{AgNO}_3$  ha sido llevada a cabo anteriormente.<sup>296-297</sup> Se ha propuesto que los cationes de  $\text{Ag}^+$  se coordinan con los grupos hidroxilo del PVA y que por efecto de la irradiación se produce una reacción *redox*, transformándose los iones metálicos en  $\text{Ag}^0$  y los grupos hidroxilo en carbonilo.<sup>296</sup>

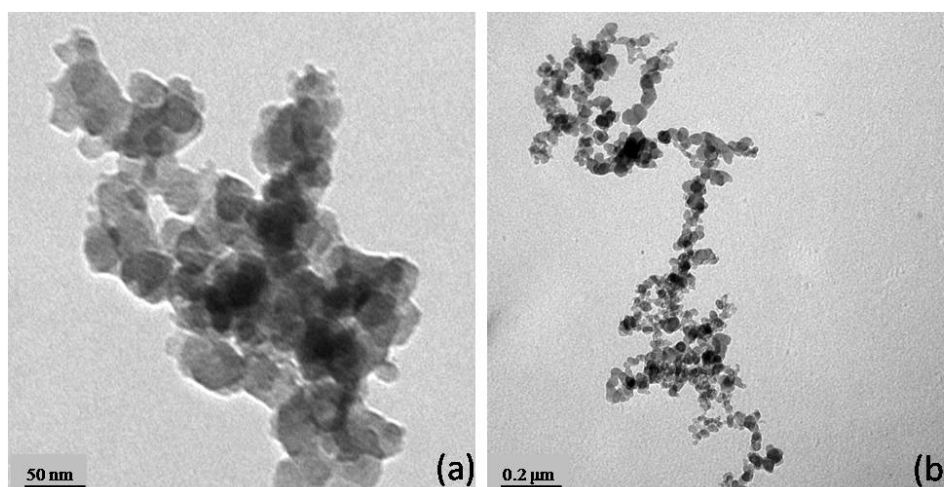
Cabe destacar el trabajo publicado por Galya y colaboradores<sup>83</sup> en el que se prepararon filmes de PVA con distintas concentraciones de  $\text{AgNO}_3$  y se evaluó el efecto antibacteriano en presencia de *E. coli* y *S. aureus* en función de la concentración de nanopartículas de plata. Para ello se midió el radio de la zona de inhibición que los materiales ejercían sobre una disolución de los microorganismos en un medio de agar, observando cómo ésta crecía en función de la concentración de plata, al contrario que la muestra de PVA sin carga, para la que no se observó ningún efecto antibacteriano.

## 7.2 Resultados y discusión.

En este capítulo se ha abordado la preparación de materiales nanocompuestos con superficies microestructuradas basados en PVA y nanopartículas de plata. El procedimiento utilizado se detalla en el apartado 3.5.3.2 de la **Parte Experimental**. El objeto de este trabajo es contribuir al conocimiento de los parámetros superficiales que controlan la adhesión de los microorganismos, para ello se han preparado nanocomposites con un contenido de 1 % de  $\text{AgNO}_3$ , con patrones superficiales de distintas dimensiones (lado x lado x altura:  $50\text{ }\mu\text{m} \times 50\text{ }\mu\text{m} \times 50\text{ }\mu\text{m}$ ,  $10\text{ }\mu\text{m} \times 50\text{ }\mu\text{m} \times 50\text{ }\mu\text{m}$ ,  $10\text{ }\mu\text{m} \times 10\text{ }\mu\text{m} \times 10\text{ }\mu\text{m}$  y  $50\text{ }\mu\text{m} \times 10\text{ }\mu\text{m} \times 10\text{ }\mu\text{m}$ ) y como referencia materiales sin patrón superficial y sin nanopartículas de plata.

### 7.2.1 Caracterización de los nanocomposites.

La formación y el tamaño de las nanopartículas de plata generadas en la matriz de PVA sin patrón superficial mediante irradiación fue observada por microscopía de transmisión, **Figura 7.1**. En estas imágenes se muestra la presencia de nanopartículas de distintas morfologías. Se puede apreciar la presencia de nanopartículas individuales de alrededor de 50 nm formando parte de un aglomerado. Galya y colaboradores<sup>83</sup> sintetizaron nanopartículas de plata en una matriz de PVA a partir de una disolución del polímero con  $\text{AgNO}_3$ , obteniendo nanopartículas de 50-100 nm de morfología muy similar a las observadas en nuestro caso.



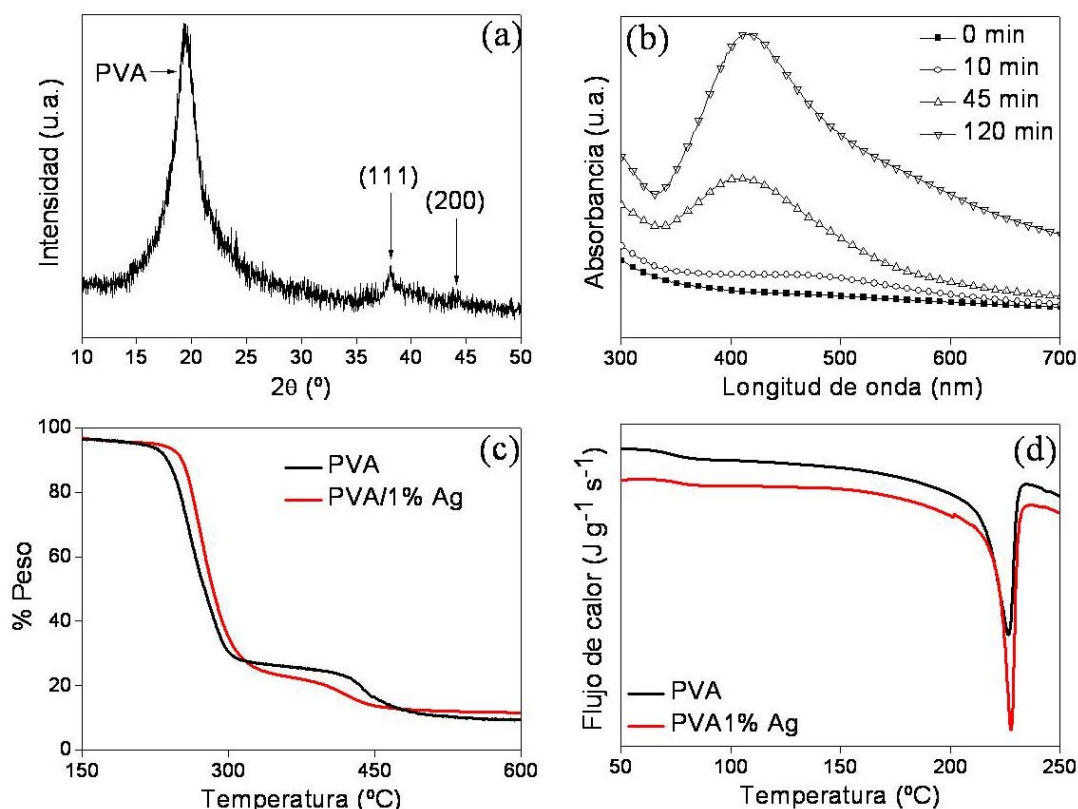
**Figura 7.1.** Imágenes de TEM de los microtomos del material PVA/1%Ag después de ser irradiado durante 120 minutos.

La identificación de  $\text{Ag}^0$  en el nanocomposite se estudió a partir del difractograma de RX realizado directamente sobre el material después de ser irradiado, mostrado en la **Figura 7.2a**. En éste se pueden identificar tres señales. La primera señal que aparece centrada en un valor de  $2\theta$  de  $19^\circ$ , es característica de la fase cristalina del PVA. Las señales débiles que aparecen a valores de  $2\theta$  de  $38^\circ$  y  $44^\circ$  se atribuyen a los planos cristalográficos centrados en la cara [111] y [200] de la plata metálica. La baja intensidad de estas señales se debe a que la mayoría de las nanopartículas de plata se encuentran en estado amorfo. Este resultado concuerda con resultados previamente publicados en los que las nanopartículas de plata obtenidas *in situ* en una matriz de PVA mediante fotoreducción de  $\text{Ag}^+$  mostraron tamaños, morfología y dispersión similar.<sup>83, 296, 298</sup>

La formación de las nanopartículas de plata fue confirmada por espectroscopía UV-Vis, para ello, filmes de PVA con un contenido de 1% de  $\text{AgNO}_3$  fueron irradiadas en las mismas condiciones a distintos periodos de tiempo (0-120 minutos).

La **Figura 7.2b** muestra la evolución de la banda de absorción durante la formación de las nanopartículas. En el espectro inicial no se aprecia ninguna banda de absorción, sin embargo, se observa la aparición de una banda de absorción alrededor de 415 nm cuya intensidad aumenta con el tiempo de irradiación, debido a la formación de nanopartículas de plata metálica y al aumento de su concentración con el tiempo. Esta absorción es debida a la excitación de plasmón de dichas nanopartículas.<sup>289-290, 299</sup> Cabe reseñar que no se observó ningún cambio destacable en el espectro de absorción a mayores tiempos de irradiación.





**Figura 7.2.** (a) Difractograma de RX de PVA/1%Ag después de 120 minutos de irradiación UV. (b) Espectros de absorción del nanocomposite PVA con 1% en peso de  $AgNO_3$  irradiado a distintos tiempos. (c) Curvas de TGA obtenidas bajo flujo de nitrógeno del PVA y PVA/1%Ag. (d) Curvas de DSC del PVA y PVA/1%Ag.

La degradación térmica del PVA transcurre a través de un mecanismo de dos etapas. Los productos principales de la primera etapa son polienos generados por la reacción de eliminación de agua, así como compuestos insaturados formados en reacciones de escisión de cadena que acompañan la eliminación. En la segunda etapa se producen reacciones de ciclación (reacciones de tipo Diels-Alder inter e intramoleculares, seguidas por reacciones de deshidrogenación/aromatización) que ocurren de forma paralela con reacciones radicáticas, y son responsables de la conversión de carbonos insaturados en carbonos sustituidos con restos aromáticos o alifáticos.<sup>300</sup>

Las curvas de pérdida de peso del PVA y del PVA/1%Ag se muestran en la **Figura 7.2c**. Se observa cómo la presencia de las nanopartículas produce un desplazamiento de alrededor de 10 °C en la primera etapa de la degradación térmica del PVA, produciendo un ligero aumento en la estabilidad térmica del material.

En el caso del material nanocompuesto, se observó una disminución de la intensidad de la segunda etapa de descomposición térmica, con respecto a la matriz polimérica, cuyo máximo estaba centrado en 437 °C.

Se han propuesto varios mecanismos de acción de las nanopartículas de plata sobre la degradación térmica del PVA. Uno es que las cadenas poliméricas en el nanocomposite presentan una movilidad reducida, por tanto las reacciones de transferencia de cadena van a estar más impedidas y el proceso de degradación estará ralentizado, teniendo lugar a temperaturas más elevadas.<sup>299</sup> Además las nanopartículas de plata pueden actuar como agentes de captura de radicales, suprimiendo la transferencia de radicales a cadenas adyacentes. Otro mecanismo propuesto consiste en la restricción de la eliminación de agua debido a las interacciones de las nanopartículas de plata con los grupos OH del PVA, haciendo aumentar la barrera energética asociada a esta reacción.<sup>300</sup>

El comportamiento térmico de los materiales fue estudiado por DSC. La **Tabla 7.1** recoge los valores de  $T_g$ ,  $T_m$  y  $\%X_c$  que se obtuvieron durante la segunda etapa de calentamiento, para el PVA puro y la muestra con nanopartículas de plata. Se observó que tanto la  $T_g$  como la  $T_m$  experimentaron un ligero descenso con la incorporación de la carga inorgánica.<sup>83, 296</sup> Mbhele y colaboradores<sup>299</sup> atribuyeron un descenso de la temperatura de fusión del PVA a una reducción de la movilidad de las cadenas producida por la presencia de las nanopartículas, que dificultaría el proceso de cristalización.

**Tabla 7.1.** Datos calorimétricos de los materiales PVA y PVA/1%Ag.  $\Delta H_{100\%} = 168$  J/g).

Material	$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)	$\%X_c$
PVA	76	228	35
PVA/1%Ag	74	227	32

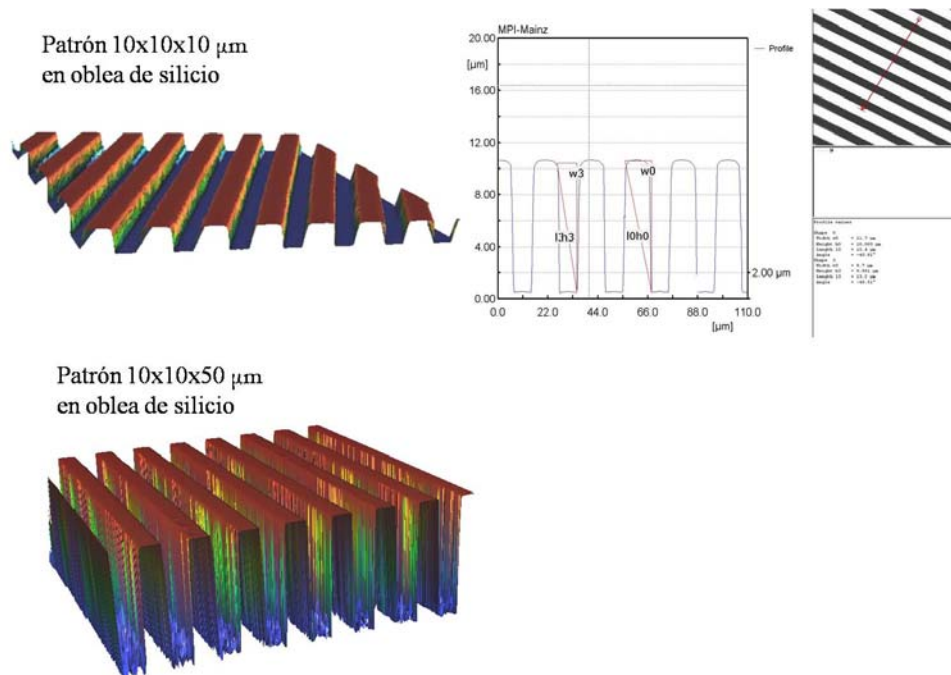
La **Figura 7.2d** recoge las curvas de DSC de ambos materiales. El grado de cristalinidad de la matriz disminuye ligeramente por la presencia de las nanopartículas de plata, y que estaría asociado a la menor movilidad de las cadenas, que afectaría al proceso de cristalización.

### 7.2.2 Preparación de las estructuras en las obleas de silicio.

Como se describe en el apartado 3.5.3.1 de la Parte Experimental, se prepararon estructuras en obleas de silicio con patrones superficiales de dimensiones en  $\mu\text{m}$ :  $50 \times 50 \times 50$ ,  $10 \times 50 \times 50$ ,  $10 \times 10 \times 10$  y  $50 \times 10 \times 10$ .

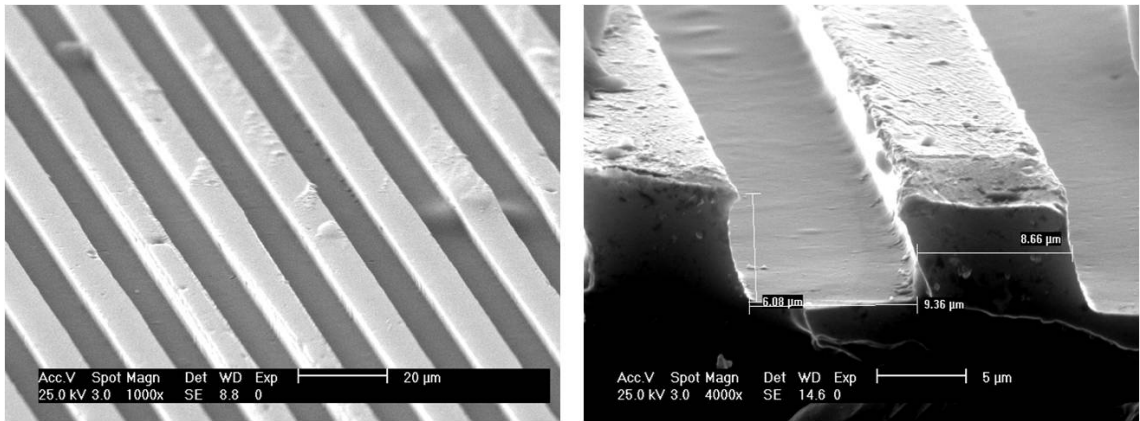
La caracterización de las estructuras obtenidas por litografía sobre las obleas de silicio, se llevó a cabo mediante microscopía confocal de superficie.

En las imágenes mostradas en las **Figuras 7.3a** y **7.3b** se observan los perfiles de las estructuras fabricadas sobre los soportes de silicio y las reconstrucciones tridimensionales de las mismas. Se midieron las dimensiones de las estructuras en distintas zonas para comprobar la homogeneidad del patrón a lo largo de toda la superficie. En general, aquellas estructuras con menor relación de aspecto presentaron perfiles mejor definidos y de las dimensiones esperadas.

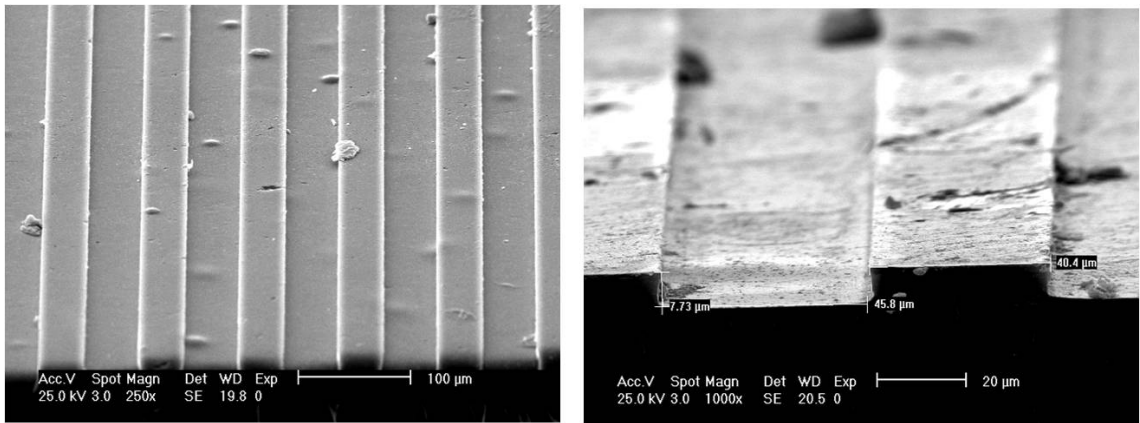


**Figura 7.3a.** Imágenes 3D y perfiles de las obleas de silicio  $10 \times 10 \times 10 \mu\text{m}$  y  $10 \times 10 \times 50 \mu\text{m}$  obtenidas mediante fotolitografía.

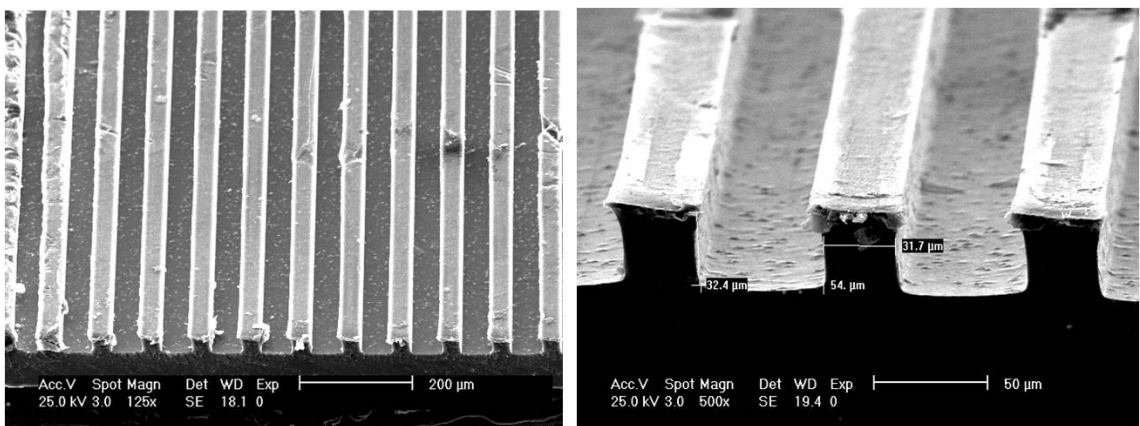




**Figura 7.4.** Filme de PVA/1%Ag con un patrón de 10x10x10 μm.



**Figura 7.5.** Filme de PVA/1%Ag con un patrón de 50x50x10 μm.



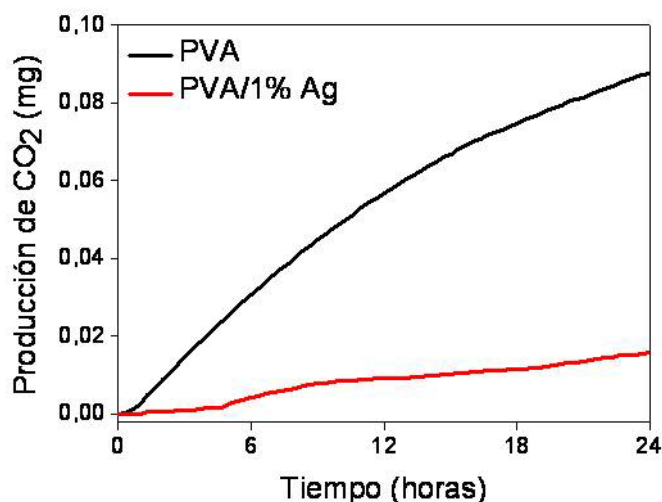
**Figura 7.6.** Filme de PVA/1%Ag con un patrón de 50x50x50 μm.

#### 7.2.4 Actividad antimicrobiana.

Con el fin de estudiar el efecto que la presencia de las nanopartículas de plata tiene en el crecimiento bacteriano en los materiales de PVA se evaluó, mediante medidas indirectas de impedancia, el  $\text{CO}_2$  producido en el metabolismo bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa*, tal y como se describe en el apartado 3.1.6.4 de la **Parte Experimental**. Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 7.7**.

Como se puede observar, el crecimiento bacteriano en los biorreactores que contenían la muestra de PVA y, por tanto, la producción de  $\text{CO}_2$  empieza prácticamente desde el inicio del bioensayo, no observándose ningún efecto inhibitorio del PVA y confirmando una rápida adaptación de las bacterias al medio de cultivo desde el momento de la inoculación.

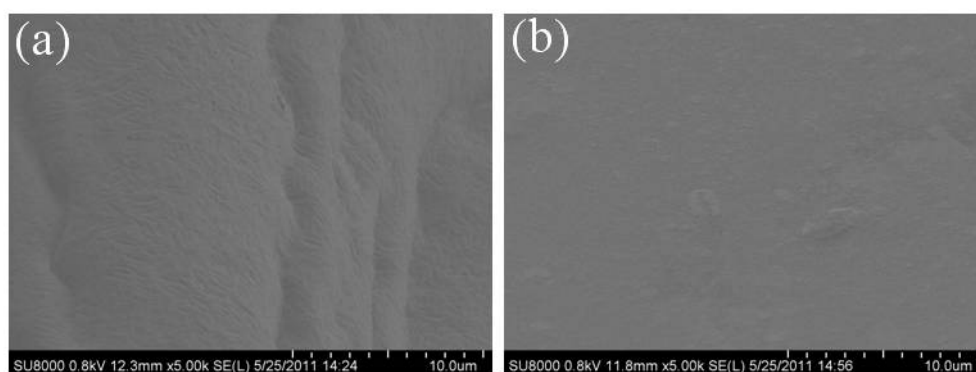
Por el contrario, la formulación de PVA que contiene 1% de nanopartículas de plata, experimenta un drástico periodo de inhibición en la producción de dióxido de carbono. Con ello se confirma la eficiencia de las nanopartículas de plata para impedir la colonización y el desarrollo bacteriano en el material modificado.



**Figura 7.7.** Producción de  $\text{CO}_2$  a 37 °C de los materiales de PVA en presencia de *P. aeruginosa*.

Se llevaron a cabo ensayos de adhesión bacteriana sobre filmes de PVA y PVA/1%Ag con diferentes microestructuras superficiales, como se describe en el apartado 3.1.6.5 de la **Parte Experimental**. En primer lugar el estudio se realizó en muestras sin patrón

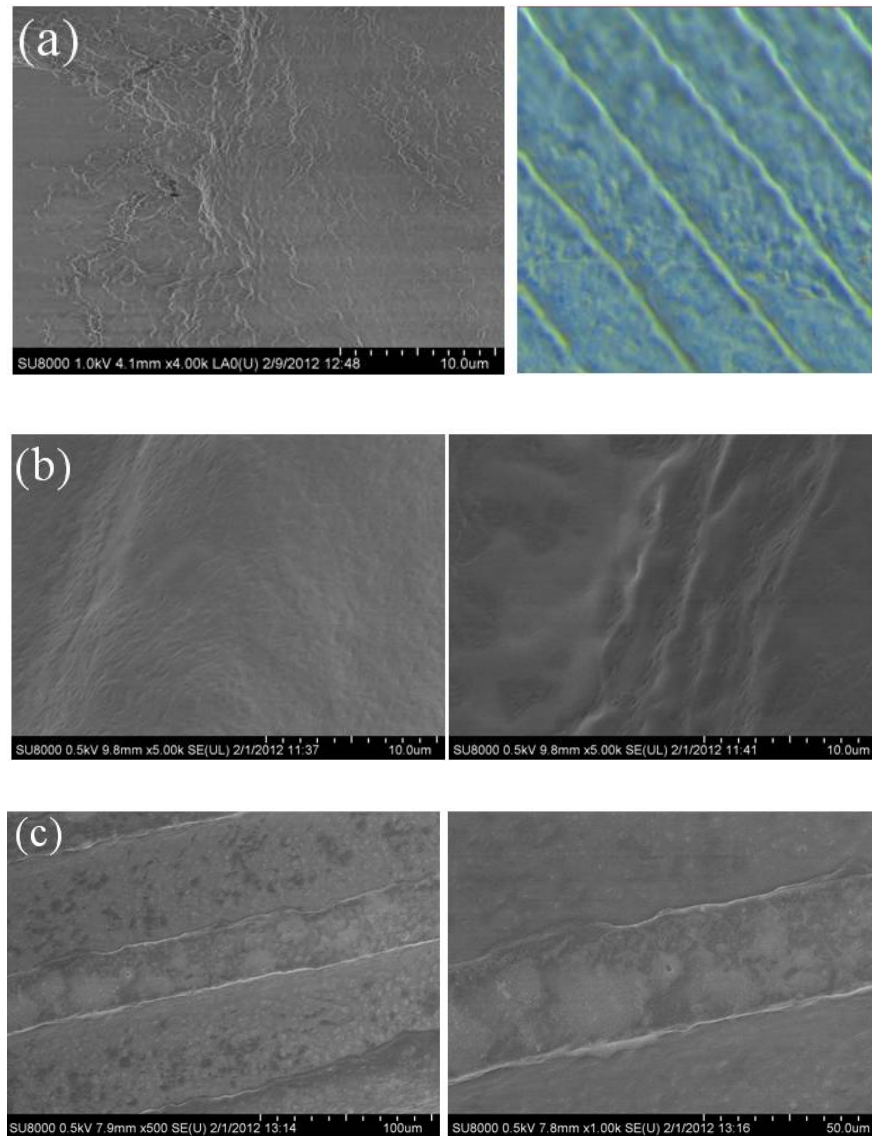
superficial para evaluar la actividad de las nanopartículas de plata. En la **Figura 7.9** se muestran las imágenes de SEM de los filmes de PVA. En ausencia de nanopartículas de plata, **Figura 7.8a**, los filmes de PVA no mostraron actividad antibacteriana alguna y *P. aeruginosa* fue capaz de formar biofilme en la superficie de las muestras. Sin embargo cuando los experimentos se realizaron con filmes de PVA/1%Ag, se observó la ausencia de adhesión bacteriana, **Figura 7.8b**, confirmando la eficiencia de las nanopartículas de plata como agente antimicrobiano. Estos resultados confirman los resultados obtenidos en los experimentos de medidas indirectas de impedancia del CO<sub>2</sub> producido por el metabolismo bacteriano.



**Figura 7.8.** Superficie de los filmes de PVA tras los ensayos de adhesión bacteriana: (a) sin plata (b) con Ag NP's.

Los filmes de PVA con microestructura superficial mostraron un comportamiento dependiente de las dimensiones del patrón impreso. En la **Figura 7.9** se pone de manifiesto que la colonización bacteriana tiene lugar en todas las muestras, siendo ésta mayor en los materiales con altura inferior en la microestructura 10x10x10µm, en los que además se observa una pérdida de resolución en el patrón superficial después del ensayo de adhesión. Las imágenes de microscopía electrónica ponen de manifiesto una menor colonización para las muestras 10x10x50µm y este resultado es más evidenciado en las muestras 50x50x50µm, que además presentan una mayor estabilidad dimensional, que permite observar la microestructura.

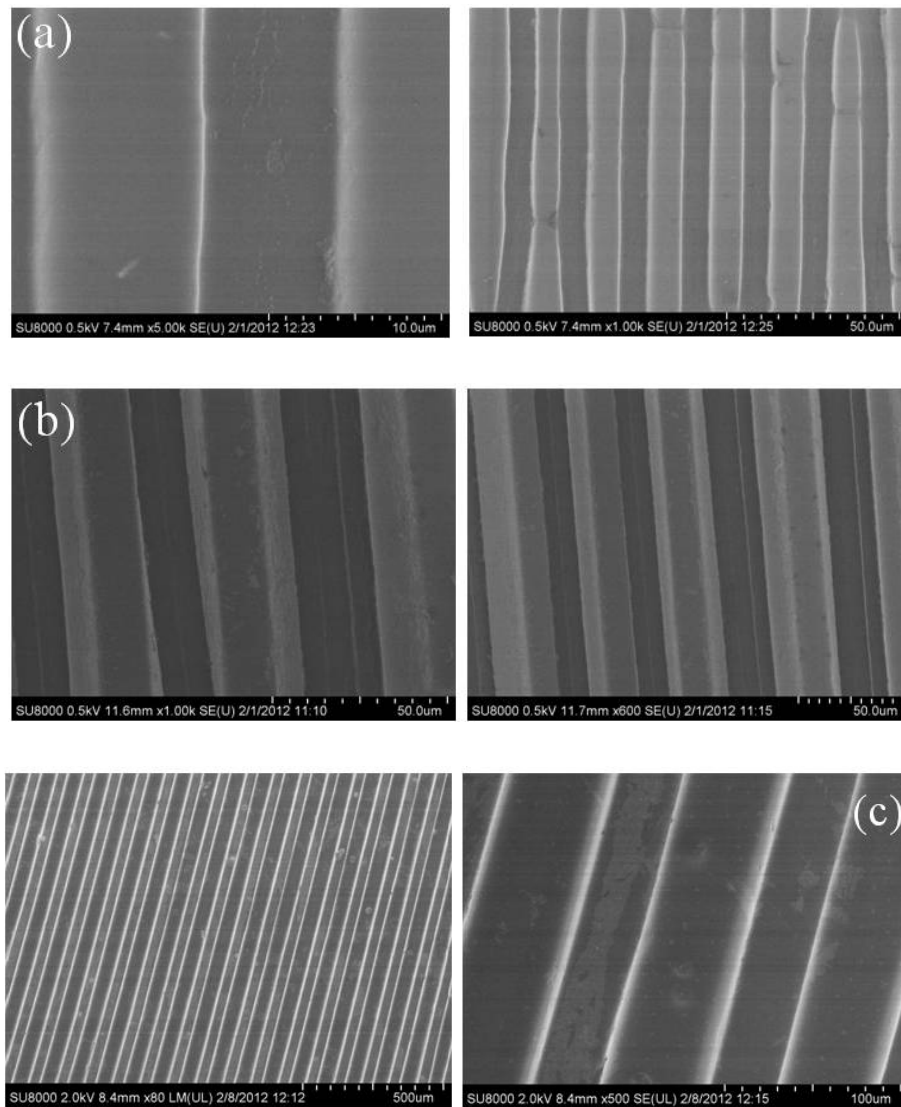




**Figura 7.9.** Superficie de los filmes de PVA tras los ensayos de adhesión bacteriana: (a) 10x10x10 $\mu$ m, (b) 10x10x50 $\mu$ m y (c) 50x50x50 $\mu$ m.

Los resultados obtenidos fueron confirmados en el estudio de adhesión de las muestras que contenían 1% en peso de nanopartículas de plata y con microestructura superficial, **Figura 7.10**. En todas ellas se observó la ausencia de formación de biofilme, y además la presencia de las nanopartículas contribuyó a una mayor estabilidad dimensional que se ve favorecida para patrones con mayor altura, como es el caso de la muestra 50x50x50 $\mu$ m.





**Figura7.10.** Superficie de los filmes de PVA1%Ag tras los ensayos de adhesión bacteriana: (a) 10x10x10μm, (b) 10x10x50μm y (c) 50x50x50μm.

Estos resultados están de acuerdo con la alta eficiencia antibacteriana de las nanopartículas de plata frente a bacterias Gram negativas observada por otros autores<sup>82, 301</sup> y que ha sido atribuida a la relativa abundancia de cargas negativas en la superficie de estas bacterias, de tal forma que la penetración de las nanopartículas de plata dentro de la célula está facilitada, interaccionando fuertemente con los componentes celulares que causan una inhibición más efectiva del crecimiento bacteriano.

Esta importante propiedad antibacteriana de las nanopartículas de plata que inducen una inhibición sobre la colonización y el crecimiento de una bacteria, como es *P.*

*aeruginosa*, causante de infecciones hospitalarias, es de gran interés para la aplicación biomédica de estos materiales.

Por otra parte, los materiales con microestructura superficial son de gran interés para la preparación de superficies antibacterianas, existen ejemplos en la bibliografía de la utilización de tratamientos con plasma en los que la adhesión bacteriana es afectada. La metodología presentada constituye una alternativa para regular la adhesión bacteriana y contribuir a una mayor estabilidad dimensional de los materiales mediante el control de los parámetros superficiales y la incorporación de nanopartículas de plata.

## **CAPÍTULO 8**



## CONCLUSIONES.

En este trabajo de tesis se ha llevado a cabo la preparación de materiales nanocompuestos con actividad antibacteriana a través de la incorporación de silicatos laminares modificados con surfactantes macromoleculares y nanopartículas de plata. Las conclusiones de cada capítulo así como las contribuciones más relevantes de este trabajo se resumen a continuación.

### 1. Nanocomposites basados en PCL/MMT.

1. Se ha sintetizado un copolímero de bloque fluorescente (PCL-b-PDEAEMA-NBD) por ATRP, con alta concentración de grupos amonio cuaternario en su estructura. La intercalación del copolímero en montmorillonita MMT-k10, conduce a un incremento en el espaciado interlaminar y una estructura menos ordenada espacialmente en la arcilla.
2. El aumento del espaciado entre láminas junto con el carácter organofílico de la arcilla modificada  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ , facilita que las cadenas de policaprolactona penetren en la estructura laminar induciendo una morfología de intercalación y exfoliación en los nanocomposites preparados por extrusión.
3. La rugosidad superficial de los filmes medida por AFM incrementó con el contenido de arcilla, siendo este efecto más acusado en los nanocomposites con  $\text{MMT}_{\text{PCL-b-PDEAEMA-NBD}}$ , que se corresponde con la morfología de las muestras.
4. La presencia de los silicatos laminares no tiene una influencia significativa en las transiciones térmicas de los materiales. La incorporación de MMT-k10 provocó una disminución de la cristalinidad en todos los casos, a diferencia de la arcilla organomodificada que induce un aumento en la cristalinidad de la PCL, asociado a la presencia de tactoides de intercalación/exfoliación y láminas individuales que actúan como agentes nucleantes.
5. La incorporación de arcilla en la matriz de PCL, aumenta la estabilidad térmica del material respecto a la PCL sin carga, y las temperaturas de degradación analizadas por

TGA se desplazan a mayores valores en los materiales nanocompuestos, debido a que la presencia de estas láminas inorgánicas impide la difusión de los productos volátiles de descomposición a través de la matriz.

6. La intensidad de emisión de quimioluminiscencia disminuye y el onset se desplaza a valores más altos de temperatura en los nanocomposites respecto a la matriz de policaprolactona. Este efecto es más pronunciado con el aumento del contenido de arcilla en los materiales y para las arcillas organomodificadas, confirmando los resultados obtenidos por TGA debido al efecto barrera proporcionado por los silicatos.

7. El análisis de los distintos parámetros de adhesión, proliferación y liberación de LDH, de fibroblastos murinos L929 sembrados en los nanocomposites, demuestran su biocompatibilidad que permitieron el cultivo de fibroblastos en su superficie con gran nivel de viabilidad, bajo nivel de apoptosis y sin daño de la membrana.

8. La biodegradación de los nanocomposites en presencia de la bacteria Gram-positiva *Bacillus subtilis* y la Gram-negativa *Pseudomonas putida*, fue analizada a través de la producción de CO<sub>2</sub> usando una técnica de medida de impedancia indirecta. La biodegradación en presencia de MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> se encontró inhibida o retrasada con respecto a las muestras PCL y PCL/1MMT-k10. Este resultado está asociado con el efecto antimicrobiano de la funcionalidad amonio cuaternario presente en la arcilla.

10. La emisión de quimioluminiscencia de los materiales tras 42 días de exposición bacteriana confirma los resultados obtenidos a partir de la captura de CO<sub>2</sub> producida durante el metabolismo bacteriano. Los materiales preparados con MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> mostraron una emisión de QL menor.

11. Los materiales preparados expuestos a plasma oxidante experimentan un aumento de rugosidad superficial con la duración del tratamiento y concentración de arcilla. Este comportamiento es más acusado en los nanocomposites con arcilla organomodificada, debido a la mayor compatibilización entre MMT<sub>PCL-b-PDEAEMA-NBD</sub> y la matriz. Mediante el tratamiento con plasma de oxígeno tiene lugar la ablación de la materia orgánica, quedando en la superficie las partículas de arcilla.

12. La exposición al plasma de oxígeno condujo a una disminución del ángulo de contacto con agua para todos los materiales, que es atribuido al aumento en la rugosidad de la superficie, y por tanto en el área de contacto entre el líquido y el substrato sólido,

y a la generación de grupos funcionales que favorecen el aumento de la componente polar de la energía libre superficial, y por tanto de la humectabilidad.

13. La presencia de silicatos laminares produjo un aumento de la estabilidad en los materiales frente al proceso de degradación oxidativa, y que estaría asociado al fenómeno denominado auto-pasivación.

## **2. Nanocomposites basados en HEMA/PEGDMA/MMT.**

1. Polímeros hiperramificados de distinto peso molecular y estructura han sido funcionalizados con grupos amonio cuaternario y utilizados para modificar MMT. La intercalación conduce a un incremento en el espaciado interlaminar que depende de la naturaleza del organomodificador pero es independiente de su peso molecular.

2. Las arcillas modificadas se han utilizado para preparar materiales nanocompuestos mediante fotopolimerización. La presencia de arcilla conduce a un aumento de las velocidades de fotopolimerización, asociado con la baja difusividad de los monómeros en la matriz polimérica. Este hecho es más notable para la arcilla modificada con el hiperramificado de mayor peso molecular, la cual muestra un grado de modificación mayor y una mejor dispersión en la matriz.

3. Los nanocomposites muestran un aumento de la estabilidad térmica, relacionado con las excelentes propiedades barrera de las nanoláminas de arcilla distribuidas en la matriz, y en general esta mejora incrementa con la concentración de arcilla.

4. Los materiales nanocompuestos fueron sometidos a ensayos de actividad antimicrobiana frente *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, observando una inhibición en la adhesión de ambas bacterias en sus superficies, en comparación con la muestra sin carga HEMA/PEGDMA, en la cual la colonización de ambos microorganismos fue evidenciada mediante SEM.

5. Las diferencias de dureza encontradas entre los nanocomposites sugieren que la naturaleza del organomodificador presente en la arcilla juega un papel más importante en los procesos de adhesión de las bacterias estudiadas que la dureza, y que la alta eficiencia contra los microorganismos está relacionada con la presencia de HBP con una alta densidad de amonios cuaternarios anclados a la arcilla.

### **3. Materiales nanoestructurados basados en MMT/PEI/Magnetita.**

1. Se han preparado materiales híbridos a partir de MMT y nanopartículas de magnetita recubiertas con dos polietileniminas hiperramificadas de peso molecular diferente, en los que las nanopartículas de magnetita se encuentran dispersas en la superficie de las láminas de MMT.
3. La capacidad de magnetización de los materiales ha sido medida y se observa un aumento en la coercitividad en los híbridos respecto a las nanopartículas de magnetita, indicando la desagregación de éstas en los silicatos laminares.
4. Se ha evaluado la eficiencia de adsorción de Cr (VI) en disolución acuosa en un conjunto de disoluciones de diferente concentración. Los materiales preparados mostraron una eficiencia de adsorción constante en un intervalo de pH entre 1 y 9.
5. La combinación de los tres componentes resulta en un material magnético híbrido con una serie de ventajas: alta eficiencia de adsorción y estabilidad química en un rango de pH entre 0 y 11, debido a la protección otorgada por el recubrimiento de MMT/PEI, reducción del problema de la coagregación y facilidad en la separación por aplicación de un campo magnético.

### **4. Nanocomposites basados en PVA/Ag.**

1. Se han sintetizado materiales nanocompuestos superficialmente estructurados con matriz de PVA y nanopartículas de plata generadas *in situ* a partir de la fotoreducción de AgNO<sub>3</sub>.
2. El efecto que la presencia de las nanopartículas de plata tiene en el crecimiento bacteriano en los materiales de PVA se evaluó, mediante medidas indirectas de impedancia. Tanto la adhesión, como el crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa* en los materiales de PVA se vieron claramente inhibidos por la presencia de nanopartículas de plata, confirmando la eficiencia de éstas como potentes agentes antibacterianos.
4. Los ensayos de adhesión bacteriana sobre filmes de PVA y PVA/1%Ag con diferentes microestructuras superficiales, confirman la eficiencia de las nanopartículas de plata como agentes antimicrobianos, y muestran un comportamiento dependiente de



las dimensiones del patrón impreso. Se observa una menor colonización para las muestras de mayor altura 50x50x50µm, que además presentan una mayor estabilidad dimensional. Para las muestras que contienen nanopartículas de plata y con microestructura superficial, se observa la ausencia de formación de biofilme, y además la presencia de las nanopartículas contribuyó a una mayor estabilidad dimensional



## **CAPÍTULO 9**



## BIBLIOGRAFÍA

1. Ke, Y. C.; Stroeve, P., *Polymer-Layered Silicate and Silica Nanocomposites*. 2005 p3-21.
2. Duncan, T. V., Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, 363, 1-24.
3. Kadar, F.; Szazdi, L.; Fekete, E.; Pukanszky, B., Surface Characteristics of Layered Silicates: Influence on the Properties of Clay/Polymer Nanocomposites. *Langmuir* **2006**, 22, 7848-7854.
4. Trindade, A. F.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M., Recyclable Stereoselective Catalysts. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 418–514.
5. Bhattacharyya, K. G.; Gupta, S. S., Adsorption of a few heavy metals on natural and modified kaolinite and montmorillonite: A review. *Advances in Colloid and Interface Science* **2008**, 140, 114–131.
6. Lin, F. H.; Lee, Y. H.; Jian, C. H.; Wong, J.-M.; Shieh, M.-J.; Wang, C.-Y., A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier. *Biomaterials* **2002**, 23, 1981-1987.
7. Usuki, A.; Kojima, Y.; Kawasumi, M.; Okada, A.; Kurauchi, T.; Kamigaito, O., Characterization and properties of nylon 6. Clay hybrid. *American Chemical Society, Polymer Preprints, Division of Polymer Chemistry* **1990**, 31 (2), 651-652
8. Kojima, Y.; Fukumori, K.; Usuki, A.; Okada, A.; Kurauchi, T., Gas permeabilities in rubber-clay hybrid. *Journal of Materials Science Letters* **1993**, 12, (12), 889-890
9. Usuki, A.; Kojima, Y.; Kawasumi, M.; Okada, A.; Fukushima, Y.; Kurauchi, T.; Kamigaito, O., Synthesis of nylon 6-clay hybrid *Journal of Materials Research* **1993**, 8, (5), 1179-1184
10. Kojima, Y.; Usuki, A.; Kawasumi, M.; Okada, A.; Kurauchi, T.; Kamigaito, O., Synthesis of nylon 6-clay hybrid by montmorillonite intercalated with  $\epsilon$ -caprolactam. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **1993**, 31, (4), 983-986
11. Kojima, Y.; Usuki, A.; Kawasumi, M.; Okada, A.; Fukushima, Y.; Kurauchi, T.; Kamigaito, O., Mechanical properties of nylon 6-clay hybrid. *Journal of Materials Research* **1993**, 8, (5), 1185-1189

12. Kojima, Y.; Usuki, A.; Kawasumi, M.; Okada, A.; Kurauchi, T.; Kamigaito, O., Sorption of water in nylon 6-clay hybrid. *Journal of Applied Polymer Science* **1993**, 49, (7), 1259-1264.
13. Chen, B.; Evans, J. R. G., Poly( $\epsilon$ -caprolactone)-Clay Nanocomposites: Structure and Mechanical Properties. *Macromolecules* **2006**, 39, (2), 747-754.
14. Di, Y.; Iannace, S.; Di Maio, E.; Nicolais, L., Nanocomposites by Melt Intercalation Based on Polycaprolactone and Organoclay. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* **2002**, 41, 670-678.
15. Beyer, G., Nanocomposites: A new class of flame retardants for polymers. *Plastics, Additives and Compounding* **2002**, 4, (10), 22-28.
16. Ray, S. S.; Okamoto, M., Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. *Prog. Polym. Sci.* **2003**, 28, 1539–1641.
17. Helmy, A. K.; Ferreira, E. A.; de Bussetti, S. G., The surface energy of montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science* **2003**, 268, 263–265.
18. Pavlidou, S.; Papaspyrides, C. D., A review on polymer-layered silicate nanocomposites. *Progress in Polymer Science* **2008**, 33, 1119–1198.
19. Alexandre, M.; Dubois, P., Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Materials Science and Engineering* **2000**, 28, 1-63.
20. Labrue, C.; Gorrasi, G.; Monteverde, F.; Alexandre, M.; Dubois, P., Transport properties of organic vapours in silicone/clay nanocomposites. *Polymer* **2009**, 50, 3626–3637.
21. Homminga, D.; Goderis, B.; Dolbnya, I.; Reynaers, H.; Groeninckx, G., Crystallization behavior of polymer/montmorillonite nanocomposites. Part I. Intercalated poly(ethylene oxide)/montmorillonite nanocomposites. *Polymer* **2005**, 46, 11359–11365.
22. Fornes, T. D.; Yoon, P. J.; Keskkula, H.; Paul, D. R., Nylon 6 nanocomposites: the effect of matrix molecular weight. *Polymer* **2001**, 42, 9929-9940.
23. Davis, C. H.; Mathias, L. J.; Gilman, J. W.; Schiraldi, D. A.; Shields, J. R.; Trulove, P.; Sutto, T. E.; Delong, H. C., Effects of melt-processing conditions on the quality of poly(ethylene terephthalate) montmorillonite clay nanocomposites. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* **2002**, 40, 2661–2666.

24. Shin, S.-Y. A.; Simon, L. C.; Soares, J. B. P.; Scholz, G., Polyethylene–clay hybrid nanocomposites: in situ polymerization using bifunctional organic modifiers. *Polymer* **2003**, 44, 5317–5321.
25. Lepoittevin, B.; Devalckenaere, M.; Pantoustier, N.; Alexandre, M.; Kubies, D.; Calberg, C.; Jerome, R.; Dubois, P., Poly(e-caprolactone)/clay nanocomposites prepared by melt intercalation: mechanical, thermal and rheological properties. *Polymer* **2002**, 43, 4017–4023.
26. Okada A.; Usuki, A., Twenty Years of Polymer-Clay Nanocomposites. *Macromol. Mater. Eng.* **2006**, 291, 1449–1476.
27. Christian Decker, L. K., Khalid Zahouily, Said Benfarhi, Synthesis of nanocomposite polymers by UV-radiation curing. *Polymer* **2005**, 46, 6640–6648.
28. Owusu-Adom, K.; Guymon, C. A., Photopolymerization kinetics of poly(acrylate)–clay composites using polymerizable surfactants. *Polymer* **2008**, 49, 2636–2643.
29. Dean, K. M.; Bateman, S. A.; Simons, R., A comparative study of UV active silane-grafted and ion-exchanged organo-clay for application in photocurable urethane acrylate nano- and micro-composites. *Polymer* **2007**, 48, 2231–2240.
30. Tang, Z.; Kotov, N. A.; Magonov, S.; Ozturk, B., Nanostructured artificial nacre. *Nature Materials* **2003**, 2, (6).
31. Hammond, P., Form and Function in Multilayer Assembly: New Applications at the nanoscale. *Advanced Materials* **2004**, 16, (15), 1271–1293.
32. Liu, P., Polymer modified clay minerals: A review. *Applied Clay Science* **2007**, 38, 64–76.
33. Chattopadhyay, D. K.; Webster, D. C., Thermal stability and flame retardancy of polyurethanes. *Progress in Polymer Science* **2009**, 34, 1068–1133.
34. Buruiana, T.; Melinte, V.; Buruiana, E. C.; Mihai, A., Synthesis and characterization of polyurethane cationomer/MMT hybrid composite. *Polymer International* **2009**, 58, 1181–1189.
35. Monvisade, P.; Siriphannon, P., Chitosan intercalated montmorillonite: Preparation, characterization and cationic dye adsorption. *Applied Clay Science* **2009**, 42, 427–431.
36. Amin, A.; Taha, A. S.; Abd El-Ghaffar, M. A., Aliphatic Polyamidoamine Hyperbranched Polymers/Layered Silicate Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, 118, 525–537.

37. Lin, J.-J.; Chen, Y.-M., Amphiphilic Properties of Poly(oxyalkylene)amine-Intercalated Smectite Aluminosilicates. *Langmuir* **2004**, 20, 4261-4264.
38. Lin, J.-J.; Cheng, I.-J.; Wang, R.; Lee, R.-J., Tailoring Basal Spacings of Montmorillonite by Poly(oxyalkylene)diamine Intercalation. *Macromolecules* **2001**, 34, 8832-8834.
39. Rodlert, M.; Plummer, C. J. G.; Garamszegi, L.; Leterrier, Y.; Grunbauer, H. J. M.; Manson, J.-A. E., Hyperbranched polymer/montmorillonite clay nanocomposites. *Polymer* **2004**, 45, 949-960.
40. Fogelström, L.; Malmstrom, E.; Johansson, M.; Hult, A., Hard and Flexible Nanocomposite Coatings using Nanoclay-Filled Hyperbranched Polymers. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, 2, (6), 1679-1684.
41. Plummer, C. J. G.; Garamszegi, L.; Leterrier, Y.; Rodlert, M.; Manson, J.-A. E., Hyperbranched Polymer Layered Silicate Nanocomposites. *Chem. Mater.* **2002**, 14, 486-488.
42. Rodlert, M.; Plummer, C. J. G.; Leterrier, Y.; Manson, J.-A. E., Rheological behavior of hyperbranched polymer montmorillonite clay nanocomposites. *J. Rheol.* **2004**, 48, (5), 1049-1065.
43. Dai, Z.; Xiao, Y.; Yu, X.; Mai, Z.; Zhao, X.; Zou, X., Direct electrochemistry of myoglobin based on ionic liquid-clay composite films. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, 24, 1629-1634.
44. Ha, J. U.; Xanthos, M., Functionalization of Nanoclays with Ionic Liquids for Polypropylene Composites. *Polymer Composites* **2009**, 30, (5), 535-542.
45. Byrne, C.; McNally, T., Ionic Liquid Modification of Layered Silicates for Enhanced Thermal Stability. *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, 28, 780-784.
46. Kim, N. H.; Malhotra, S. V.; Xanthos, M., Modification of cationic nanoclays with ionic liquids. *Microporous and Mesoporous Materials* **2006**, 96, 29-35.
47. Yung-Hoon Ha, Y.-H.; Thomas, E. L., Deformation Behavior of a Roll-Cast Layered-Silicate/Lamellar Triblock Copolymer Nanocomposite. *Macromolecules* **2002**, 35, 4419-4428.
48. Behling, R. E.; Wolf, L. M.; Cochran, E. W., Hierarchically Ordered Montmorillonite Block Copolymer Brushes. *Macromolecules* **2010**, 43, 2111-2114.
49. Behling, R. E.; Williams, B. A.; Staade, B. L.; Wolf, L. M.; Cochran, E. W., Influence of Graft Density on Kinetics of Surface-Initiated ATRP of Polystyrene from Montmorillonite. *Macromolecules* **2009**, 42, 1867-1872.



50. Ren, J.; Silva, A. S.; Krishnamoorti, R., Linear Viscoelasticity of Disordered Polystyrene-Polyisoprene Block Copolymer Based Layered-Silicate Nanocomposites. *Macromolecules* **2000**, 33, 3739-3746.
51. Lee, J. Y.; Baljon, A. R. C.; Sogah, D. Y.; Loring, R. F., Molecular dynamics study of the intercalation of diblock copolymers into layered silicates. *Journal of Physical Chemistry* **2000**, 112, (20), 9112-9119.
52. Ganß, M.; Satapathy, B. K.; Thunga, M.; Staudinger, U.; Weidisch, R.; Jehnichen, D.; Hempel, J.; Rettenmayr, M.; Garcia-Marcos, A.; Goertz, H. H., Morphology and mechanical response of S-B star block copolymer – Layered silicate nanocomposites. *European Polymer Journal* **2009**, 45, 2549–2563.
53. Zhao, H.; Farrell, B. P.; Shipp, D. A., Nanopatterns of poly(styrene-block-butyl acrylate) block copolymer brushes on the surfaces of exfoliated and intercalated clay layers. *Polymer* **2004**, 45, 4473–4481.
54. Zhang, J.; Chen, K.; Zhao, H., PMMA Colloid Particles Armored by Clay Layers with PDMAEMA Polymer Brushes. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 2632–2639.
55. Yang, Y.; Liu, L.; Zhang, J.; Li, C.; Zhao, H., PMMA Colloid Particles Stabilized by Layered Silicate with PMMA-b-PDMAEMA Block Copolymer Brushes. *Langmuir* **2007**, 23, 2867-2873.
56. Yang, Y.; Wu, D.; Li, C.; Liu, L.; Cheng, X.; Zhao, H., Poly(L-lactide) comb polymer brushes on the surface of clay layers. *Polymer* **2006**, 47, 7374-7381.
57. Zhao, H.; Argoti, D.; Farrell, B. P.; Shipp, D. A., Polymer–Silicate Nanocomposites Produced by in situ Atom Transfer Radical Polymerization. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **2004**, 42, 916–924.
58. Zhao, H.; Shipp, D. A., Preparation of Poly(styrene-block-butyl acrylate) Block Copolymer-Silicate Nanocomposites. *Chem. Mater.* **2003**, 15, 2693-2695.
59. Limary, R.; Swinnea, S.; Green, P. F., Stability of Diblock Copolymer/Layered Silicate Nanocomposite Thin Films. *Macromolecules* **2000**, 33, 5227-5234.
60. Yang, Y.; Zhang, J.; Liu, L.; Li, C.; Zhao, H., Synthesis of PS and PDMAEMA Mixed Polymer Brushes on the Surface of Layered Silicate and Their Application in Pickering Suspension Polymerization. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* **2007**, 45, 5759–5769.

61. Kim, S. K.; Guymon, C. A., Photopolymerization Behavior in Nanocomposites Formed with Thiol–Acrylate and Polymerizable Organoclays. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* **2011**, 49, 465–475.
62. Kenawy, E. R., Biologically active polymers. IV. Synthesis and antimicrobial activity of polymers containing 8-hydroxyquinoline moiety. *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 82, (6), 1364-1374
63. Kenawy, E.-R.; Abdel-Hay, F. I.; El-Shanshoury, A. E.-R. R.; El-Newehy, M. H., Biologically active polymers. V. Synthesis and antimicrobial activity of modified poly(glycidyl methacrylate-co-2-hydroxyethyl methacrylate) derivatives with quaternary ammonium and phosphonium salts. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2002**, 40, (14), 2384-2393
64. Kenawy, E.-R.; Worley, S. D.; Broughton, R., The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State-of-the-Art Review. *Biomacromolecules* **2007**, 8, (5), 1359-1384.
65. Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M., Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science* **2012**, 37, 281– 339.
66. Acharya, V.; Prabha, C. R.; Narayanamurthy, C., Synthesis of metal incorporated low molecular weight polyurethanes from novel aromatic diols, their characterization and bactericidal properties. *Biomaterials* **2004**, 25, (19), 4555-4562.
67. Baveja, J. K.; Li, G.; Nordon, R. E.; Hume, E. B. H.; Kumar, N.; Willcox, M. D. P.; Poole-Warren, L. A., Biological performance of a novel synthetic furanone-based antimicrobial. *Biomaterials* **2004**, 25, (20), 5013-5021.
68. Timofeeva, L.; Kleshcheva, N., Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications. *Appl Microbiol Biotechnol* **2011**, 89, 475–492.
69. Gilbert, P.; Moore, L. E., Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology* **2005**, 99, 703–715.
70. Ikeda, T.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S., New polymeric biocides: Synthesis and antibacterial activities of polycations with pendant biguanide groups. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1984**, 26, (2), 139-144
71. Ikeda, T.; Hirayama, H.; Yamaguchi, H., Polycationic biocides with pendant active groups: Molecular weight dependence of antibacterial activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1986**, 30, (1), 132-136
72. Rawlinson, L.-A. B.; Ryan, S. M.; Mantovani, G.; Syrett, J. A.; Haddleton, D. M.; Brayden, D. J., Antibacterial Effects of Poly(2-(dimethylamino ethyl)methacrylate)

against Selected Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Biomacromolecules* **2010**, 11, (2), 443–453.

73. Park, D.; Wang, J.; Klibanov, A. M., One-step, painting-like coating procedures to make surfaces highly and permanently bactericidal. *Biotechnology Progress* **2006**, 22, (2), 584–589

74. Hong, S.-I.; Rhim, J.-W., Antimicrobial Activity of Organically Modified Nano-Clays. *Journal of nanoscience and nanotechnology* **2008**, 8, 5818–5824.

75. Helander, I. M.; Nurmiäho-Lassila, E.-L.; Ahvenainen, R.; Rhoades, J.; Roller, S., Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology* **2001**, 71, 235–244.

76. Lee, S.-R.; Park, H.-M.; Lim, H.; Kang, T.; Li, X.; Cho, W.-J.; Ha, C.-S., Microstructure, tensile properties, and biodegradability of aliphatic polyester/clay nanocomposites. *Polymer* **2002**, 43, 2495–2500.

77. Zhou, L.; Chen, H.; Jiang, X.; Lu, F.; Zhou, Y.; Yin, W.; Ji, X., Modification of montmorillonite surfaces using a novel class of cationic gemini surfactants. *Journal of Colloid and Interface Science* **2009**, 332, 16–21.

78. Nigmatullin, R.; Gao, F.; Konovalova, V., Polymer-layered silicate nanocomposites in the design of antimicrobial materials. *J Mater Sci* **2008**, 43, 5728–5733.

79. Rhim, J.-W.; Hong, S.-I.; Park, H.-M.; Ng, P. K. W., Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem* **2006**, 54, 5814–5822.

80. Meng, N.; Zhou, N.-L.; Zhang, S.-Q.; Shen, J., Synthesis and antimicrobial activities of polymer/montmorillonite–chlorhexidine acetate nanocomposite films. *Applied Clay Science* **2009**, 42, 667–670.

81. Wang, X.; Du, Y.; Yang, J.; Wang, X.; Shi, X.; Hu, Y., Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan/layered silicate nanocomposites. *Polymer* **2006**, 47, (19), 6738–6744

82. Uygun, M.; Kahveci, M. U.; Odaci, D.; Timur, S.; Yagci, Y., Antibacterial Acrylamide Hydrogels Containing Silver Nanoparticles by Simultaneous Photoinduced Free Radical Polymerization and Electron Transfer Processes *Macromol. Chem. Phys.* **2009**, 210, 1867–1875.

83. Galya, T.; Sedlarik, V.; Kuritka, I.; Novotny, R.; Sedlarikova, J.; Saha, P., Antibacterial Poly(vinyl Alcohol) Film Containing Silver Nanoparticles: Preparation and Characterization. *Journal of Applied Polymer Science* **2008**, 110, (5), 3178–3185.
84. Liu, Y.; Liu, X.; Wang, X.; Yang, J.; Yang, X.-J.; Lu, L., Gelatin-g-Poly(methyl methacrylate)/Silver Nanoparticle Hybrid Films and the Evaluation of Their Antibacterial Activity. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, 116, 2617–2625.
85. Aymonier, C.; Schlotterbeck, U.; Antonietti, L.; Zacharias, P.; Thomann, R.; Tiller, J. C.; Mecking, S., Hybrids of silver nanoparticles with amphiphilic hyperbranched macromolecules exhibiting antimicrobial properties. *Chem. Commun.* **2002**, 3018-3019.
86. Wohlfart, E.; Fernández-Blázquez, J. P.; Arzt, E.; Del Campo, A., Nanofibrillar patterns on PET: The influence of plasma parameters in surface morphology. *Plasma Processes and Polymers* **2011**, 8, (9), 876-884
87. Fong, H.; Vaia, R. A.; Sanders, J. H.; Lincoln, D.; Vreugdenhil, A. J.; Liu, W.; Bultman, J.; Chen, C., Self-Passivation of Polymer-Layered Silicate Nanocomposites. *Chem. Mater* **2001**, 13, 23-4129.
88. Morent, R.; De Geyter, N.; Desmet, T.; Dubruel, P.; Leys, C., Plasma surface modification of biodegradable polymers: A review. *Plasma Processes and Polymers* **2011**, 8, (3), 171-190
89. Aránzazu del Campo, E. A., Fabrication Approaches for Generating Complex Micro- and Nanopatterns on Polymeric Surfaces. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 911-945.
90. Verran, J.; Packer, A.; Kelly, P.; Whitehead, K. A., The retention of bacteria on hygienic surfaces presenting scratches of microbial dimensions. *Letters in Applied Microbiology* **2010**, 50, (3), 258-263.
91. García, N.; Corrales, T.; Guzmán, J.; Tiemblo, P., Understanding the role of nanosilica particle surfaces in the thermal degradation of nanosilica-poly(methyl methacrylate) solution-blended nanocomposites: From low to high silica concentration. *Polymer Degradation and Stability* **2007**, 92, (4), 635-643.
92. Pandey, J. K.; Reddy, K. R.; Kumar, A. P.; Singh, R. P., An overview on the degradability of polymer nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability* **2005**, 88, (2), 234-250
93. Catalina, F.; Peinado, C.; Allen, N. S.; Corrales, T., Chemiluminescence of Polyethylene: The Comparative Antioxidant Effectiveness of Phenolic Stabilizers in

Low-Density Polyethylene. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* **2002**, 40, 3312–3326.

94. Corrales, T.; Abrusci, C.; Peinado, C.; Catalina, F., Fluorescent sensor as physical amplifier of chemiluminescence: Application to the study of poly(ethylene terephthalate). *Macromolecules* **2004**, 37, (17), 6596-6605
95. Peinado, C.; Corrales, T.; García-Casas, M. J.; Catalina, F.; Quiteria, V. R. S.; Parellada, M. D., Chemiluminescence from poly(styrene-b-ethylene-co-butylene-b-styrene) (SEBS) block copolymers. *Polymer Degradation and Stability* **2006**, 91, (4), 862-874.
96. Peña, J.; Corrales, T.; Izquierdo-Barba, I.; Doadrio, A. L.; Vallet-Regí, M., Long term degradation of poly(3-caprolactone) films in biologically related fluids. *Polymer Degradation and Stability* **2006**, 91, 1424-1432.
97. Prazeres, T. J. V.; Farinha, J. P. S.; Martinho, J. M. G., Control of oligonucleotide distribution on the shell of thermo-responsive polymer nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C* **2008**, 112, (42), 16331-16339.
98. Owens, D. K.; Wendt, R. C., *Journal of Applied Polymer Science* **1969**, 13, 1741-1747.
99. Calleja, F. J. B., *Adv. Polym. Sci.* **1985**, 66, 117.
100. C. Abrusci, A. M.-G., A. Del Amo, T. Corrales, F. Catalina, Biodegradation of type-B gelatine by bacteria isolated from cinematographic films. A viscometric study. *Polymer Degradation and Stability* **2004**, 86, 283-291.
101. Tiller, J. C.; Liao, C.-J.; Lewis, K.; Klivanov, A. M., Designing surfaces that kill bacteria on contact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2001**, 98, (11), 5981-5985
102. Keller, R. N.; Wroloff, H. D., *Inorg Synth* **1947**, 2, 1-4.
103. Alonso, A.; Catalina, F.; Salvador, E. F.; Peinado, C., Synthesis of Amphiphilic Random Copolymers and Fluorescence Study of Their Association Behavior in Water. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2001**, 202, (11), 2293-2299
104. San Miguel, V.; Limer, A. J.; Haddleton, D. M.; Catalina, F.; Peinado, C., *European Polymer Journal* **2008**, 44, 3853-3863.
105. Kim, D.; Lee, N.; Park, M.; Kim, B. H.; An, K.; Hyeon, T., Synthesis of Uniform Ferrimagnetic Magnetite Nanocubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 454–455.

106. Arsianti, M.; Lim, M.; Marquis, C. P.; Amal, R., Polyelectrolyte-Coated Unilamellar Nanometer-Sized Magnetic Liposomes. *Langmuir* **2009**, 25, (12), 6793–6799.
107. Rand, M. S.; Greenberg, A. E.; Taras, M. J., *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 16th ed ed.; American Public Health Association: New York, 1975.
108. Willems, G. J.; Blaton, N. M.; Peeters, O. M.; De Ranter, C. J., The interaction of chromium(VI), chromium(III) and chromium(II) with diphenylcarbazide, diphenylcarbazone and diphenylcarbadiazone. *Analytica Chimica Acta* **1977**, 88, (2), 345-352
109. Greiner, C.; del Campo, A.; Arzt, E., Adhesion of Bioinspired Micropatterned Surfaces: Effects of Pillar Radius, Aspect Ratio, and Preload. *Langmuir* **2007**, 23, 3495-3502.
110. Wu, Q.; Chen, N.; Wang, Q., Crystallization behavior of melt-spun poly(vinyl alcohol) fibers during drawing process. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, 36, 13942-13950.
111. Ma, P. X., Scaffolds for tissue fabrication. *Materials Today* **2004**, 7, (5), 30-40
112. Marras, S. I.; Kladi, K. P.; Tsivintzelis, I.; Zuburtikudis, I.; Panayiotou, C., Biodegradable polymer nanocomposites: The role of nanoclays on the thermomechanical characteristics and the electrospun fibrous structure. *Acta Biomaterialia* **2008**, 4, 756-765.
113. Woodruff, M. A.; Hutmacher, D. W., The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science* **2010**, 35, 1217–1256.
114. Van Natta, F. J.; Hill, J. W.; Carothers, W. H., Studies of Polymerization and Ring Formation,  $\epsilon$ -Caprolactone and its Polymers. *J Am Chem Soc* **1934**, 56, 155-457.
115. Duarte, A., Supercritical phase inversion of starch-poly( $\epsilon$ -caprolactone) for tissue engineering applications. *J Mater Dci: Mater Med* **2010**, 21, 533-540.
116. Ghasemi-Mobarakeh, L.; Prabhakaran, M. P.; Morshed, M.; Nasr-Esfahani, M.-H.; Ramakrishna, S., Electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Biomaterials* **2008**, 29, 4532-4539.
117. Sinha, V. R.; Bansal, K.; Kaushik, R.; Kumria, R.; Trehan, A., Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *International journal of pharmaceutics* **2004**, 278, 1-23.

118. Middleton, J. C.; Tipton, A. J., Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* **2000**, 21, 2335-2346.
119. Chen, E.-C.; Wu, T.-M., Isothermal crystallization kinetics and thermal behavior of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/multi-walled carbon nanotube composites. *Polymer Degradation and Stability* **2007**, 92, 1009-1015.
120. Hua, L.; Kai, W. H.; Inoue, Y., Crystallization behavior of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/graphite oxide composites. *Journal of Applied Polymer Science* **2007**, 106, 4225-4232.
121. Ludueña, L. N.; Vazquez, A.; Alvarez, V. A., Processing and microstructure of PCL/clay nanocomposites. *Materials Science and Engineering A* **2007**, (460-461), 121-129.
122. Vert, M., Degradable and bioresorbable polymers in surgery and in pharmacology: beliefs and facts. *J Mater Sci: Mater Med* **2009**, 20, 437-446.
123. Eling, B.; Gogolewski, S.; Pennings, A. J., Biodegradable materials of poly(L-lactic acid): 1. Melt-spun and solution-spun fibres. *Polymer* **1982**, 23, 1587-1593.
124. Maiti, P.; Batt, C. A.; Giannelis, E. P., New Biodegradable Polyhydroxybutyrate/Layered Silicate Nanocomposites. *Biomacromolecules* **2007**, 8, (11), 3393-3400.
125. Chrissafis, K.; Antoniadis, G.; Paraskevopoulos, K. M.; Vassiliou, A.; Bikiaris, D. N., Comparative study of the effect of different nanoparticles on the mechanical properties and thermal degradation mechanism of in situ prepared poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanocomposites. *Composites Science and Technology* **2007**, 67, 2165-2174.
126. Pucciariello, R.; Villani, V.; Guadagno, L.; Vittoria, V., Equilibrium Thermal Behavior and Morphology of Organophilic Montmorillonite/Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Nanocomposites. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* **2006**, 44, 22-32.
127. Singh, N. K.; Purkayastha, B. D.; Roy, J. K.; Banik, R. M.; Yashpal, M.; Singh, G.; Malik, S.; Maiti, P., Nanoparticle-induced controlled biodegradation and its mechanism in poly( $\epsilon$ -caprolactone). *ACS Applied Materials and Interfaces* **2010**, 2, (1), 69-81
128. Di Maio, E.; Iannace, S.; Sorrentino, L.; Nicolais, L., Isothermal crystallization in PCL/clay nanocomposites investigated with thermal and rheometric methods. *Polymer* **2004**, 45, 8893-8900.

129. Homminga, D. S.; Goderis, B.; Mathot, V. B. F.; Groeninckx, G., Crystallization behavior of polymer/montmorillonite nanocomposites. Part III. Polyamide-6/montmorillonite nanocomposites, influence of matrix molecular weight, and of montmorillonite type and concentration. *Polymer* **2006**, 47, 1630-1639.
130. Ludueña, L. N.; Alvarez, V. A.; Vazquez, A., Crystallization of Polycaprolactone-Clay Nanocomposites. *Materials Science and Engineering A* **2007**, 460-461, 121-129.
131. Perez, C. J.; Vázquez, A.; Alvarez, V. A., Isothermal crystallization of layered silicate/starch-polycaprolactone blend nanocomposites. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2008**, 3, 749-757.
132. Pérez, C. J.; Alvarez, V. A.; Mondragón, I.; Vázquez, A., Mechanical properties of layered silicate/starch polycaprolactone blend nanocomposites. *Polym Int* 56:686–693 (2007) **2007**, 56, 686–693.
133. Campbell, K. T.; Craig, D. Q. M.; McNally, T., Ibuprofen-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) layered silicate nanocomposites prepared by hot melt extrusion *J Mater Sci: Mater Med* **2010**, 21, 2307–2316.
134. Campbell, K.; Qi, S.; Craig, D. Q. M.; McNally, T., Paracetamol-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) layered silicate nanocomposites prepared using hot-melt extrusion. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2009**, 98, 4831–4843.
135. Webster, O. W., Living Polymerization Methods. *Science* **1991**, 251, 887-893
136. Ding, S.; Tang, H.; Radosz, M.; Shen, Y., Atom transfer radical polymerization of ionic liquid 2-(1-butylimidazolium-3-yl)ethyl methacrylate tetrafluoroborate. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2004**, 42, 5794-5801.
137. De Clercq, B.; Laperre, J.; Ruys, L., The controlled radical polymerisation process as an instrument for tailor-made coating applications. *Progress in Organic Coatings* **2005**, 53, 195-206
138. Chen, G.; Huynh, D.; Felgner, P. L.; Guan, Z., Tandem chain walking polymerization and atom transfer radical polymerization for efficient synthesis of dendritic nanoparticles for bioconjugation *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, 4298-4302
139. Greszta, D.; Mardare, D.; Matyjaszewski, K., "Living" Radical Polymerization. Possibilities and Limitations. *Macromolecules* **1994**, 27, 638-644.
140. Goto, A.; Fukuda, T., Kinetics of living radical polymerization. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, 29, 329–385.



141. Patten, T. E.; Xia, J.; Abernathy, T.; Matyjaszewski, K., Polymers with very low polydispersities from atom transfer radical polymerization. *Science* **1996**, 272, 866-868.
142. Matyjaszewski, K.; Xia, J., Atom transfer radical polymerization. *Chemical Reviews* **2001**, 101, (9), 2921–2990.
143. Kamigaito, M.; Ando, T.; Sawamoto, M., Metal-catalyzed living radical polymerization. *Chemical Reviews* **2001**, 101, 3689-3745
144. Matyjaszewski, K.; Davis, K.; Patten, T. E.; Wei, M., Observation and analysis of a slow termination process in the atom transfer radical polymerization of styrene *Tetrahedron* **1997**, 53, 15321-15329.
145. Fischer, H., The Persistent Radical Effect in controlled radical polymerizations. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **1999**, 37, (13), 1885-1901
146. Samakande, A.; Sanderson, R. D.; Hartmann, P. C., RAFT-mediated polystyrene-clay nanocomposites prepared by making use of initiator-bound MMT clay. *European Polymer Journal* **2009**, 45, 649–657.
147. Persenaire, O.; Alexandre, M.; Degée, P.; Dubois, P., Mechanisms and Kinetics of Thermal Degradation of Poly(e-caprolactone). *Biomacromolecules* **2001**, 2, 288-294.
148. Yu, H.; Gan, L. H.; Hu, X.; Venkatraman, S. S.; Tam, K. C.; Gan, Y. Y., A Novel Amphiphilic Double-[60]Fullerene-Capped Triblock Copolymer. *Macromolecules* **2005**, 38, 9889-9893.
149. Peinado, C.; Salvador, E. F.; Baselga, J.; Catalina, F., Fluorescent probes for monitoring the UV curing of acrylic adhesives, 1: FTIR and fluorescence in real time. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2001**, 202, (9), 1924-1934
150. Fan, X.; Xia, C.; Advincula, R. C., Grafting of polymers from clay nanoparticles via in situ free radical surface-initiated polymerization: Monocationic versus bicationic initiators. *Langmuir* **2003**, 19, (10), 4381-4389
151. Mittal, K. L., Contact Angle, Wettability and Adhesion, Vol 6. In 2009; pp 283-285.
152. Fowkes, F. M., *Ind. Engr. Chem.* **1964**.
153. Zhou, Q.; Wang, K.; Loo, L. S., Investigation of surface properties of plasma-modified polyamide 6 and polyamide 6/layered silicate nanocomposites. *J Mater Sci* **2010**, 46, (9), 3084-3093.
154. Anadão, P.; Sato, L. F.; Wiebeck, H.; Valenzuela-Díaz, F. R., Montmorillonite as a component of polysulfone nanocomposite membranes. *Applied Clay Science* **2010**, 48 127–132.

155. Yao, L.; Yang, T.; Cheng, S., Synthesis and Characterization of Poly(fluorinated acrylate)/Silica Hybrid Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, 115, 3500–3507.
156. Peinado, C.; Corrales, T.; Catalina, F.; Pedrón, S.; Santa Quiteria, V. R.; Parellada, M. D.; Barrio, J. A.; Olmos, D.; González-Benito, J., Effects of ozone in surface modification and thermal stability of SEBS block copolymers. *Polymer Degradation and Stability* **2010**, 95, (6), 975-986.
157. Wenzel, R. N., Surface roughness and contact angle. *Journal of Physical & Colloid Chemistry* **1949**, 53, (9), 1466-1467.
158. Burton, Z.; Bhushan, B., Hydrophobicity, adhesion, and friction properties of nanopatterned polymers and scale dependence for micro- and nanoelectromechanical systems. *Nano Letters* **2005**, 5, (8), 1607-1613.
159. Wan, C.; Bao, X.; Zhao, F.; Kandasubramanian, B.; Duggan, M. P., Morphology and properties of silane-modified montmorillonite clays and clay/PBT composites. *Journal of Applied Polymer Science* **2008**, 110, 550-557.
160. Farinha, J. P. S.; Martinho, J. M. G.; Pogliani, L., Non-linear least-squares and chemical kinetics. An improved method to analyse monomer-excimer decay data. *Journal of Mathematical Chemistry* **1997**, 21, (2), 131-139
161. Wang, K.; Chen, L.; Wu, J.; Toh, M. L.; He, C.; Yee, A. F., Epoxy Nanocomposites with Highly Exfoliated Clay: Mechanical Properties and Fracture Mechanisms. *Macromolecules* **2005**, 38, 788-800.
162. Serrano, M. C.; Pagani, R.; Vallet-Regí, M.; Peña, J.; Rámila, A.; Izquierdo, I.; Portolés, M. T., In vitro biocompatibility assessment of poly( $\epsilon$ -caprolactone) films using L929 mouse fibroblasts *Biomaterials* **2004**, 25, (25), 5603-5611
163. Bailey; Scott, *Diagnóstico Microbiológico*. 11 ed.; 2004.
164. San Miguel, V.; Peinado, C.; Catalina, F.; Abrusci, C., Bioremediation of naphthalene in water by *Sphingomonas paucimobilis* using new biodegradable surfactants based on poly (3-caprolactone). *International Biodeterioration & Biodegradation* **2009**, 63, 217–223.
165. Abrusci, C.; Marquina, D.; Del Amo, A.; Catalina, F., Biodegradation of cinematographic gelatin emulsion by bacteria and filamentous fungi using indirect impedance technique. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2007**, 60, 137–143.

166. Abrusci, C.; Marquina, D.; Santos, A.; Del Amo, A.; Corrales, T.; Catalina, F., Biodeterioration of cinematographic cellulose triacetate by *Sphingomonas paucimobilis* using indirect impedance and chemiluminescence techniques. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2009**, 63, 759–764.
167. Pablos, J. L.; Abrusci, C.; Marín, I.; López-Marín, J.; Catalina, F.; Espí, E.; Corrales, T., Photodegradation of polyethylenes: Comparative effect of Fe and Ca-stearates as pro-oxidant additives. *Polymer Degradation and Stability* **2010**, 95, 2057-2064.
168. Peña, J.; Corrales, T.; Izquierdo-Barba, I.; Serrano, M. C.; Portolés, M. T.; Pagani, R.; Vallet-Regí, M., Alkaline-treated poly( $\epsilon$ -caprolactone) films: Degradation in the presence or absence of fibroblasts. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* **2006**, 76, (4), 788-797.
169. Gomathi, N.; Sureshkumar, A.; Neogi, S., RF plasma-treated polymers for biomedical applications. *Current Science* **2008**, 94, 1478-1486.
170. Ortíz-Magán, A. B.; Pastor-Blas, M. M., Migration of Processing Oils of Thermoplastic Rubber Treated with RF Plasma. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* **2008**, 28, (3), 391-404
171. Kim, H. T.; Jeong, O. C., PDMS surface modification using atmospheric pressure plasma. *Microelectronic Engineering* **2011**, 88, 2281–2285.
172. Suratwala, T. I.; Hanna, M. L.; Millar, E. L.; Whitman, P. K.; Thomas, I. M.; Erhmann, P. R.; Maxwell, R. S., Surface chemistry and trimethylsilyl functionalization of Stöber silica sols. *J. Non-Cryst. Solids* **2003**, 316, (2-3), 349-363.
173. Morent, R.; De Geyter, N.; Leys, C.; Gengembre, L.; Payen, E., Comparison between XPS- and FTIR-analysis of plasma-treated polypropylene film surfaces. *Surf. Interface Anal* **2008**, 40, 597–600.
174. Tahara, M.; Cuong, N. K.; Nakashima, Y., Improvement in adhesion of polyethylene by glow-discharge plasma. *Surface and Coatings Technology* **2003**, 173 – 174, 826–830.
175. Yildirim, E. D.; Ayan, H.; Vasilets, V. N.; Fridman, A.; Gucer, S.; Sun, W., Effect of Dielectric Barrier Discharge Plasma on the Attachment and Proliferation of Osteoblasts Cultured over Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Scaffolds. *Plasma Process. Polym.* **2008**, 5, 58–66.

176. Chen, G.; Zhou, P.; Mei, N.; Chen, X.; Shao, Z., Silk fibroin modified porous poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffold for human fibroblast culture in vitro. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **2004**, 15, (6), 671-677.
177. Tang, Z. G.; Black, R. A.; Curran, J. M.; Hunt, J. A.; Rhodes, N. P.; Williams, D. F., Surface properties and biocompatibility of solvent-cast poly[e-caprolactone] films. *Biomaterials* **2004**, 25, 4741–4748.
178. Sabino, M. A., Oxidation of polycaprolactone to induce compatibility with other degradable polyesters. *Polymer Degradation and Stability* **2007**, 92, 986-996.
179. Yildirim, E. D.; Pappas, D.; Güçeri, S.; Sun, W., Enhanced Cellular Functions on Polycaprolactone Tissue Scaffolds by O<sub>2</sub> Plasma Surface Modification. *Plasma Process. Polym.* **2011**, 8, 256–267.
180. Formosa, F.; Sánchez-Vaquero, V.; Rodríguez-Navas, C.; Muñoz-Noval, Á.; Tejera-Sanchez, N.; Manso Silván, M.; García-Ruiz, J. P.; Marletta, G., Evaluation of Plasma Modified Polycaprolactone Honeycomb Scaffolds by Human Mesenchymal Stem Cells Cultured in Vitamin D Differentiation Medium. *Plasma Process. Polym.* **2010**, 7, 794–801.
181. Smole, M. S.; Stakne, K.; Kleinschek, K. S.; Kurecic, M.; Bele, M.; Svetec, D. G.; Ribitsch, V., Electrokinetic Properties of Polypropylene-Layered Silicate Nanocomposite Fibers. *Journal of Applied Polymer Science* **2009**, 113, 1276–1281.
182. Collaud Coen, M.; Dietler, G.; Kasas, S.; Griining, P., AFM measurements of the topography and the roughness of ECR plasma treated polypropylene. *Applied Surface Science* **1996**, 103, 27-34.
183. Little, U.; Buchanan, F.; Harkin-Jones, E.; Graham, B.; Fox, B.; Boyd, A.; Meenan, B.; Dickson, G., Surface modification of poly( $\epsilon$ -caprolactone) using a dielectric barrier discharge in atmospheric pressure glow discharge mode. *Acta Biomaterialia* **2009**, 5, 2025-2032.
184. Sanchis, M. R.; Blanes, V.; Blanes, M.; Garcia, D.; Balart, R., Surface modification of low density polyethylene (LDPE) film by low pressure O<sub>2</sub> plasma treatment. *European Polymer Journal* **2006**, 42, 1558-1568.
185. Farmer, V. C.; Russell, J. D., The infra-red spectra of layer silicates. *Spectrochimica Acta* **1964**, 20, 1149-1173.
186. Cole, K. C., Use of Infrared Spectroscopy To Characterize Clay Intercalation and Exfoliation in Polymer Nanocomposites. *Macromolecules* **2008**, 41, 834-843.

187. Tomalia, D. A.; Fréchet, J. M. J., Discovery of dendrimers and dendritic polymers: A brief historical perspective *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2002**, 40, (16), 2719-2728
188. Inoue, K., Functional dendrimers, hyperbranched and star polymers. *Progress in Polymer Science* **2000**, 25, (4), 453-571.
189. Gao, C.; Yan, D., Hyperbranched polymers: from synthesis to applications. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29, (3), 183-275.
190. Fodor, K.; Kolmschot, S. G. A.; Sheldon, R. A., Heterogeneous enantioselective catalysis: State of the art. *Enantiomer* **1999**, 4, (6), 497-511.
191. Kim, Y. H., Hyperbranched polymers 10 years after. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **1998**, 36, (11), 1685-1698
192. Kim, Y. H.; Webster, O. W., Water-soluble hyperbranched polyphenylene: "A unimolecular micelle"? *Journal of the American Chemical Society* **1990**, 112, (11), 4592-4593
193. De Brabander-van Den Berg, E. M. M.; Meijer, E. W., Poly(propylene imine) dendrimers: Large-scale synthesis by heterogeneously catalyzed hydrogenations *Angewandte Chemie* **1993**, 32, (9), 1308-1311
194. Kim, Y. H.; Webster, O. W., Hyperbranched polyphenylenes. *Macromolecules* **1992**, 25, (21), 5561-5572.
195. Eisenberg, A., Glass transitions in ionic polymers. *Macromolecules* **1971**, 4, (1), 125-128
196. McKee, M. G.; Park, T.; Unal, S.; Yilgor, I.; Long, T. E., Electrospinning of linear and highly branched segmented poly(urethane urea)s *Polymer* **2005**, 46, (7), 2011-2015
197. Feng, D.; Wilkes, G. L.; Leir, C. M.; Stark, J. E., Morphological investigation of polytetra-methyleneoxide-dibromoxylene segmented ionene polymers by transmission electron microscopy and small-angle X-ray scattering. *Journal of macromolecular science. Chemistry* **1989**, A26, (8), 1151-1181
198. Trollsås, M.; Hedrick, J. L.; Mecerreyes, D.; Dubois, P.; Jérôme, R.; Ihre, H.; Hult, A., Versatile and controlled synthesis of star and branched macromolecules by dendritic initiation *Macromolecules* **1997**, 30, (26), 8508-8511
199. Gao, C.; Hou, J.; Yan, D.; Wang, Z., Preparation and characterization of fluorescent hyperbranched polyether *Reactive and Functional Polymers* **2004**, 58, (1), 65-72

200. Hawker, C. J.; Chu, F.; Pomery, P. J.; Hill, D. J. T., Hyperbranched poly(ethylene glycol)s: A new class of ion-conducting materials. *Macromolecules* **1996**, 29, (11), 3831-3838.
201. Sunder, A.; Krämer, M.; Hanselmann, R.; Mülhaupt, R.; Frey, H., Molecular nanocapsules based on amphiphilic hyperbranched polyglycerols. *Angewandte Chemie* **1999**, 38, (23), 3552-3555
202. Rhodes, S. M.; Higgins, B.; Xu, Y.; Brittain, W. J., Hyperbranched polyol/carbon nanofiber composites. *Polymer* **2007**, 48, (6), 1500-1509
203. Gillies, E. R.; Jonsson, T. B.; Fréchet, J. M. J., Stimuli-responsive supramolecular assemblies of linear-dendritic copolymers *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (38), 11936-11943
204. Sterescu, D. M.; Stamatialis, D. F.; Mendes, E.; Kruse, J.; Rätzke, K.; Faupel, F.; Wessling, M., Boltorn-Modified Poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) Gas Separation Membranes. *Macromolecules* **2007**, 40, (15), 5400–5410.
205. Malkoch, M.; Hallman, K.; Lutsenko, S.; Hult, A.; Malmström, E.; Moberg, C., Dendritic Oxazoline Ligands in Enantioselective Palladium-Catalyzed Allylic Alkylations. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67, (23), 8197–8202.
206. Öztekin, N.; Alemdar, A.; Güngör, N.; Erim, F. B., Adsorption of polyethyleneimine from aqueous solutions on bentonite clays. *Materials Letters* **2002**, 55, (1-2), 73-76.
207. Fogelström, L.; Antoni, P.; Malmström, E.; Hult, A., UV-curable hyperbranched nanocomposite coatings. *Progress in Organic Coatings* **2006**, 55, 284–290.
208. Fouassier, J. P., *Photoinitiation photopolymerization and photocuring: fundamentals and applications*. Hanser Publishers: Munich, Vienna, New York, 1995.
209. Bongiovanni, R.; Montefusco, F.; Priola, A.; Macchioni, N.; Lazzeri, S.; Sozzi, L.; Ameduri, B., High performance UV-cured coatings for wood protection. *Prog. Org. Coat.* **2002**, 45, 359.
210. Li, F.; Zhou, S.; Yu, L. B.; Wu, J., Kinetic investigations on the UV-induced photopolymerization of nanocomposites by FTIR spectroscopy. *Appl. Polym. Sci* **2006**, 99, (4), 1429-1436.
211. Decker, C.; Zahouily, K.; Keller, L.; Benfarhi, S.; Bendaikha, T.; Baron, J., Ultrafast synthesis of bentonite-acrylate nanocomposite materials by UV-radiation curing. *Journal of Materials Science* **2002**, 37, (22), 4831-4838

212. Müh, E.; Stieger, M.; Klee, J. E.; Frey, H.; Mülhaupt, R., Organic–inorganic hybrid networks by the sol–gel process and subsequent photopolymerization. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2001**, 39, (24), 4274-4282.
213. Miyazaki, H.; Teranishi, Y.; Ota, T., Fabrication of uv-opaque and visible-transparent composite film. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2006**, 90, (16), 2640-2646.
214. Zahouily, K.; Benfarhi, S.; Bendaikha, T.; Baron, J.; Decker, C., *Proc. RadTech. Europe* **2001**.
215. Zahouily, K.; Decker, C.; Benfarhi, S.; Baron, J., *Proc. RadTech. Am.* **2002**.
216. B. S. Shemper, J.-F. M., M. Alirol, A. Domenech, V. Hulin, L. J. Mathias, Synthetic Clay Nanocomposite-Based Coatings Prepared by UV-Cure Photopolymerization. *Journal of Applied Polymer Science* **2004**, 93, 1252–1263.
217. Uhl, F. M.; Davuluri, S. P.; Wong, S. C.; Webster, D. C., Polymer Films Possessing Nanoreinforcements via Organically Modified Layered Silicate. *Chemistry of Materials* **2004**, 16, (6), 1135-1142
218. Uhl, F. M.; Hinderliter, B. R.; Davuluri, P.; Croll, S. G.; Wong, S. C.; Webster, D. C., *Polym Prepr (Am Chem Soc Div Polym Chem)* **2003**, 44, 247.
219. Li, H. Y.; Chen, Y. F.; Xie, Y. S., Nanocomposites of cross-linking polyanhydrides and hydroxyapatite needles: mechanical and degradable properties. *Mater Lett.* **2004**, 58, (22-23), 2819-2823.
220. Kammona, O.; Chatzi, E. G.; Kiparissides, C., Recent Developments in Hardware Sensors For the On-Line Monitoring of Polymerization Reactions. *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.* **1999**, 39, (1), 57-134.
221. Dietz, J. E.; Peppas, N. A., Reaction kinetics and chemical changes during polymerization of multifunctional (meth)acrylates for the production of highly crosslinked polymers used in information storage systems. *Polymer* **1997**, 38, (15), 3767-3781.
222. Catalina, F.; Peinado, C.; Blanco, M.; Alonso, A.; Allen, N. S., Photocalorimetric study on the photoinitiation activity of water soluble copolymers with pendent benzil moieties. *J. Photochem. Photobiol. A-Chem.* **2000**, 131, (1-3), 141-146.
223. Cho, J.-D.; Ju, H.-T.; Hong, J.-W., Photocuring kinetics of UV-initiated free-radical photopolymerizations with and without silica nanoparticles. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2005**, 43, (3), 658-670.
224. Decker, C., *Mater. Sci. Technol.* **1997**, 18, 615.

225. Allen, N. S.; Corrales, T.; Edge, M.; Catalina, F.; Peinado, C.; Blanco, M.; Green, A., Synthesis, photochemical and photoinitiation activity of water-soluble copolymers with anthraquinone chromophores as side-chain groups. *Eur. Polym. J.* **1998**, 34, (3-4).
226. Huskić, M.; Žagar, E.; Žigon, M.; Brnardić, I.; Macan, J.; Ivanković, M., Modification of montmorillonite by cationic polyesters. *Applied Clay Science* **2009**, 43, 420–424.
227. Demirelli, K.; Coşkun, M.; Kaya, E., A detailed study of thermal degradation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate). *Polymer Degradation and Stability* **2001**, 72, (1), 75-80.
228. Lichter, J. A.; Thompson, M. T.; Delgadillo, M.; Nishikawa, T.; Rubner, M. F.; Van Vliet, K. J., Substrata Mechanical Stiffness Can Regulate Adhesion of Viable Bacteria. *Biomacromolecules* **2008**, 9, (6), 1571–1578.
229. Raji, C.; Anirudhan, T. S., Batch Cr(VI) removal by polyacrylamide-grafted sawdust: kinetics and thermodynamics. *Water Res.* **1998**, 32, 3772-3780.
230. Costa, M., Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water. . *Reg. Toxicol. Pharmacol.* **2003**, 188, 1-5.
231. Development Document for Effluent Limitations Guidelines and Standards for the Metal Finishing Point Source Category. In Agency, U. E. P., Ed. Washington, DC, 1980.
232. Kurniawan, T. A.; Chan, G. Y. S.; Lo, W. H.; Babel, S., Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. *Chem. Eng. J.* **2006**, 118, 83–98.
233. Kurniawan, T. A.; Lo, W. H.; Chan, G. Y. S., Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate. *J. Hazard. Mater. B* **2006**, 129, 80-100.
234. Yoon, J.; Amy, G.; Chung, J.; Sohn, J.; Yoon, Y., Removal of toxic ions (chromate, arsenate and perchlorate) using reverse osmosis, nanofiltration, and ultrafiltration membranes. *Chemosphere* **2009**, 77, 228–235.
235. Huang, Y. C.; Koseoglu, S. S., Separation of heavy metals from industrial wastestreams by membrane separation technology. *Waste Manage* **1993**, 13, (5-7), 481-501.



236. Mavrov, V.; Erwe, T.; Blocher, C.; Chmiel, H., Study of new integrated processes combining adsorption, membrane separation and flotation for heavy metal removal from wastewater. *Desalination* **2003**, 157, 97-104.
237. Galán, B.; Castañeda, D.; Ortiz, I., Removal and recovery of Cr(VI) from polluted ground waters: a comparative study of ion-exchange technologies. *Water Res.* **2005**, 39, 4317–4432.
238. Chou, C. C.; Chang, Y. C.; Chiang, M. L.; Lin, J. J., Conformational Change of Trifunctional Poly(oxypropylene)amines Intercalated within a Layered Silicate Confinement. *Macromolecules* **2004**, 37, 473–477.
239. Bayramoglu, G.; Arica, M. Y., Adsorption of Cr(VI) onto PEI immobilized acrylatebased magnetic beads: isotherms, kinetics and thermodynamics study. *Chem. Eng. J.* **2008**, 139, 20-28.
240. Karthikeyan, T.; Rajgopal, S.; Miranda, L. R., Chromium (VI) adsorption from aqueous solution by HeveaBrasilinesis sawdust activated carbon. *J. Hazard. Mater.B* **2005**, 124, 192-199.
241. Booker, N. A.; Keir, D.; Priestley, A. J.; Ritchie, C. B.; Sudarmana, D. L.; Woods, M. A., Sewage Clarification with Magnetite Particles. *Water Sci. Technol.* **1991**, 23, 1703–1712.
242. Oliveira, L. C. A.; Petkowicz, D. I.; Smaniotto, A.; Pergher, S. B. C., Magnetic zeolites: a new adsorbent for removal of metallic contaminants from water. *Water Res.* **2004**, 38, 3699–3704.
243. Oliveira, L. C. A.; Rios, R. V. R. A.; Fabris, J. D.; Sapag, K.; Garg, V. K.; Lago, R. M., Clay-iron oxide magnetic composites for the adsorption of contaminants in water. *Appl. Clay Sci.* **2003**, 22, 169–177.
244. Orbell, J. D.; Godhino, L., Oil spill remediation using magnetic particles. *J. Chem. Educ.* **1997**, 74, 1446-1448.
245. Kandile, N. G.; Nasr, A. S., Environment friendly modified chitosan hydrogels as a matrix for adsorption of metal ions, synthesis and characterization. *Carbohydr. Polym.* **2009**, 78, 753-759.
246. Sag, Y., Biosorption of heavy metals by fungal biomass and modeling of fungal biosorption: A review. *Sep. Purif. Method* **2001**, 30, 1-48.
247. Deng, S. B.; Ting, Y. P., Characterization of PEI-modified biomass and biosorption of Cu(II), Pb(II) and Ni(II). *Water Res.* **2005**, 39, 2167-2177.

248. Ghouil, M.; Bacquet, M.; Morcellet, M., Uptake of heavy metals from synthetic aqueous solutions using modified PEI-silica gels. *Water Res.* **2003**, 729-734.
249. Arruebo, M.; Fernandez-Pacheco, R.; Irusta, S.; Arbiol, J.; Ibarra, M. R.; Santamaria, J., Sustained release of doxorubicin from zeolite-magnetite nanocomposites prepared by mechanical activation. *Nanotechnology* **2006**, 17, 4057–4064.
250. Bruce, I. J.; Taylor, J.; Todd, M.; Davies, M. J.; Borioni, E.; Sangregorio, C.; Sen, T., Synthesis, characterisation and application of silica magnetite nanocomposites. *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, 284, 145–160.
251. Kang, Y. S.; Risbud, S.; Rabolt, J.; Stroeve, P., Brewster angle microscopy study of a magnetic nanoparticle/polymer complex at the air/water interface. *Langmuir* **1996**, 12, 4345–4349.
252. Novakova, A. A.; Lanchinskaya, V. Y.; Volkov, A. V.; Gendler, T. S.; Kiseleva, T. Y.; Moskvina, M. A.; Zezin, S. B., Magnetic properties of polymer nanocomposites containing iron oxide nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **2003**, 258, 354-357.
253. Zhang, M. J.; Zhang, Q.; Itoh, T.; Abe, M., Ferrite plating on porous silica microspheres for ultrasonic contrast agents. *IEEE Trans. Magn.* **1994**, 30, 4692-4694.
254. Ajjou, A. N.; Harouna, D.; Detellier, C.; Alper, H., Cation-exchanged montmorillonite catalyzed hydration of styrene derivatives. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1997**, 126, 55–60.
255. Celis, R.; Hermosin, M. C.; Carrizosa, M. J.; Cornejo, J., Inorganic and organic clays as carriers for controlled release of the herbicide hexazinone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, 2324-2330.
256. Cseri, T.; Bekassy, S.; Figueras, F.; Rizner, S., Benzylation of aromatics on ion-exchanged clays. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1995**, 98, 101-107.
257. Pinnavaia, T. J., Intercalated Clay Catalysts. *Science* **1983**, 220, 365–371.
258. Park, J. H.; Karim, M. R.; Kim, I. K.; Cheong, I. W.; Kim, J. W.; Bae, D. G.; Cho, J. W.; Yeum, J. H., Electrospinning fabrication and characterization of poly (vinyl alcohol)/montmorillonite/silver hybrid nanofibers for antibacterial applications. *Colloid Polym Sci* **2010**, 288, 115–121.
259. Podsiadlo, P.; Rouillard, J. M.; Zhang, Z.; Lee, J. Y.; Lee, J. W.; Gulari, E.; Kotov, N. A., Layer-by-Layer Assembly of Nacre-like Nanostructured Composites with Antimicrobial Properties. *Langmuir* **2005**, 21, 11915-11921.

260. Hsu, R. S.; Chang, W. H.; Lin, J. J., Nanohybrids of Magnetic Iron-Oxide Particles in Hydrophobic Organoclays for Oil Recovery. *ACS Applied materials & interfaces* **2010**, 2, 1349-1354.
261. Son, Y. H.; Lee, J. K.; Soong, Y.; Martello, D.; Chyu, M., Structure–Property Correlation in Iron Oxide Nanoparticle–Clay Hybrid Materials. *Chem. Mater.* **2010**, 22, 2226–2232.
262. Doff, D. H.; Gangas, N. H. J.; Allan, J. E. M.; Coey, J. M. D., Preparation and characterization of iron oxide pillared montmorillonite. *Clay Minerals* **1988**, 23, 367-377.
263. Miyoshi, H.; Yoneyama, H. J., Photochemical properties of iron oxide incorporated in clay interlayers. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1989**, 85, 1873–1880.
264. Mori, H.; Miyoshi, H.; Takeda, K.; Yoneyama, H.; Fujita, H.; Iwata, Y.; Otsuka, Y.; Murata, Y., TEM observation of iron oxide pillars in montmorillonite. *J. Mater. Sci.* **1992**, 27, 3197–3199.
265. Heylen, I.; Vanhoof, C.; Vansant, E. F., Preadsorption of organic compounds on iron oxide-pillared clays. *Microporous Mater.* **1995**, 5, 53–60.
266. Yuan, P.; Fan, M.; Yang, D.; He, H.; Liu, D.; Yuan, A.; Zhu, J.; Chen, T. H., Montmorillonite-supported magnetite nanoparticles for the removal of hexavalent chromium [Cr(VI)] from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, 166, 821–829.
267. Kozák, O.; Praus, P.; Kocí, K.; Klementová, M., Preparation and characterization of ZnS nanoparticles deposited on montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, 352, 244–251.
268. Wu, T.-S.; Wang, K.-X.; Li, G.-D.; Sun, S.-Y.; Sun, J.; Chen, J.-S., Montmorillonite-supported Ag/TiO<sub>2</sub> nanoparticles: an efficient visible-light bacteria photodegradation material. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, 2, (2), 544–550.
269. Okada A., U., A., Twenty Years of Polymer-Clay Nanocomposites. . *Macromol.Mater. Eng.* **2006**, 291, 1449-1476.
270. Cornell, R., M.; Schwerman, U., *The iron oxides: Structure, properties, Reactions, Occurences and Uses*. 2 ed.; 2003.
271. Liu, J. F.; Zhao, Z. S.; Jiang, G. B., Coating Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles with humic acid for high efficient removal of heavy metals in water. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, 42, 6949–6954.

272. Hua, X. J.; Wang, J. S.; Liua, Y. G.; Li, X.; Zeng, G. M.; Bao, Z. L.; Zeng, X. X.; Chen, A. W.; Long, F., Adsorption of chromium (VI) by ethylenediamine-modified cross-linked magnetic chitosan resin: Isotherms, kinetics and thermodynamics. *Journal of Hazardous Materials* **2011**, 185, 306–314
273. Nomanbhay, S. M.; Palanisamy, K., Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal. *Electron. J. Biotechnol.* **2005**, 8, 43-53.
274. Park, S. J.; Jang, Y. S., Pore structure and surface properties of chemically Modified activated carbons for adsorption mechanism and rate of Cr(VI). *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, 249, 458-463.
275. Hu, J.; Lo, I. M. C.; Chen, G., Removal of Cr(VI) by magnetite. *Water Sci Technol.* **2004**, 50, 139-146.
276. Cabatingan, L. K.; Agapay, R. C.; Rakels, J. L. L.; Ottens, M.; van der Wielen, L. A. M., Potential of biosorption for the recovery of chromate in industrial wastewaters. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, 40, 2302-2309.
277. Langmuir, I., The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. *Journal of American Chemical Society* **1916**, 40, 1361–1368.
278. Freundlich, H. M. F., Over the adsorption in solution. *Journal of Physical Chemistry* **1906**, 57, 385–470.
279. Fang, J.; Gu, Z.; Gang, D.; Liu, C.; Ilton, E. S.; Deng, B., Cr(VI) Removal from Aqueous Solution by Activated Carbon Coated with Quaternized Poly(4-vinylpyridine). *Environ. Sci. Technol.* **2007**, 41, (13), 4748–4753.
280. Álvarez-Ayuso, E.; García-Sánchez, A.; Querol, X., Adsorption of Cr(VI) from synthetic solutions and electroplating wastewaters on amorphous aluminium oxide. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 142, (1-2), 191-198.
281. Samani, M. R.; Borghei, S. M.; Olad, A.; Chaichi, M. J., Removal of chromium from aqueous solution using polyaniline – Poly ethylene glycol composite. *J. Hazard. Mater.* **2010**, 184, (1-3), 248-254.
282. Kim, J.; Kim, P.; Lee, S. H.; Suh, G. Y.; Yoon, J., Effect of the PEG or PMMA micro-patterned surface roughness on bacterial adhesion. In *2nd ASM-IEEE EMBS Conference on Bio-, Micro- and Nanosystems*, 2006; pp 97-99.
283. Jiang, L.; Islam, S.; Chen, C. H.; Korivi, N. S., Patterned Polymer-Carbon Nanotube Composite. *Journal of Electronic and Electrical Engineering* **2011**, 2, (1), 18-23.

284. Murata, H.; Koepsel, R. R.; Matyjaszewski, K.; Russell, A. J., Permanent, non-leaching antibacterial surfaces—2: How high density cationic surfaces kill bacterial cells. *Biomaterials* **2007**, 28, (32), 4870-4879.
285. Iconomopoulou, S. M.; Voyiatzis, G. A., The effect of the molecular orientation on the release of antimicrobial substances from uniaxially drawn polymer matrixes. *Journal of Controlled Release* **2005**, 103, 451–464.
286. Sharma, V. K.; Yngard, R. A.; Lin, Y., Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science* **2009**, 145, 83–96.
287. Whitehead, K. A.; Verran, J., The effect of surface topography on the retention of microorganisms. *Food and Bioproducts Processing* **2006**, 84, (4C), 253-259.
288. Díaz, C.; Cortizo, M. C.; Schilardi, P. L.; Gómez de Saravia, S. G.; Fernández Lorenzo de Mele, M. A., Influence of the nano-micro structure of the surface on bacterial adhesion. *Materials Research* **2007**, 10, (1), 11-14.
289. Park, J. T.; Koh, J. H.; Lee, K. J.; Seo, J. A.; Min, B. R.; Kim, J. H., Formation of silver nanoparticles created in situ in an amphiphilic block copolymer film. *Journal of Applied Polymer Science* **2008**, 110, (4), 2352–2357.
290. Goyal, A.; Kumar, A.; Patra, P. K.; Mahendra, S.; Tabatabaei, S.; Alvarez, P. J. J.; John, G.; Ajayan, P. M., In situ Synthesis of Metal Nanoparticle Embedded Free Standing Multifunctional PDMS Films. *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, 30, 1116–1122.
291. Zhi, L.; Zhao, T.; Yu, Y., Preparation of phenolic resin/silver nanocomposites via in situ reduction. *Scripta Materialia* **2002**, 47, (12), 875–879.
292. Yagci, Y.; Sangermano, M.; Rizza, G., A visible light photochemical route to silver–epoxy nanocomposites by simultaneous polymerization–reduction approach. *Polymer* **2008**, 49, 5195–5198.
293. Sakamoto, M.; Fujistuka, M.; Majima, T., Light as a construction tool of metal nanoparticles: Synthesis and mechanism. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2009**, 10, 33–56.
294. Dubas, S. T.; Kumlangdudsana, P.; Potiyaraj, P., Layer-by-layer deposition of antimicrobial silver nanoparticles on textile fibers. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2006**, 289, 105–109.

295. Badr, Y.; Mahmoud, M. A., Enhancement of the optical properties of poly vinyl alcohol by doping with Silver nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science* **2006**, 99, 3608–3614.
296. Zidan, H. M., Effect of AgNO<sub>3</sub> filling and UV-irradiation on the structure and morphology of PVA films. *Polymer Testing* **1999**, 18, 449–461.
297. Clémenson, S.; Léonard, D.; Sage, D.; David, L.; Espuche, E., Metal nanocomposite films prepared in Situ from PVA and silver nitrate. Study of the nanostructuration process and morphology as a function of the in Situ routes. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, (6), 2062-2071.
298. Khanna, P. K.; Singh, N.; Kulkarni, D.; Deshmukh, S.; Charan, S.; Adhyapak, P. V., Water based simple synthesis of re-dispersible silver nano-particles. *Materials Letters* **2007**, 61, (16), 3366-3370.
299. Mbhele, Z. H.; Salemane, M. G.; van Sittert, C. G. C. E.; Nedeljković, J. M.; Djoković, V.; Luyt, A. S., Fabrication and Characterization of Silver–Polyvinyl Alcohol Nanocomposites. *Chem. Mater.* **2003**, 15, (26), 5019–5024.
300. Krklješ, A. N.; Marinović-Cincović, M. T.; Kačarević-Popović, Z. M.; Nedeljković, J. M., Dynamic thermogravimetric degradation of gamma radiolytically synthesized Ag–PVA nanocomposites. *Thermochimica Acta* **2007**, 460, (1-2), 28-34
301. Shrivastava, S.; Bera, T.; Roy, A.; Singh, G.; Ramachandrarao, P.; Dash, D., Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology* **2007**, 18, (225103).